ISSN 0073 - 9901
MIBUAH



GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENAÇÃO DOS INSTITUTOS DE PESQUISA
INSTITUTO BUTANTAN
SÃO PAULO, SP — BRASIL

Memórias do Instituto Butantan

VOLUME 52 NÚMERO 3, 1990

* NESTA EDIÇÃO

BOLETIM DE BIOTECNOLOGIA, V.1

As "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN" têm por finalidade a apresentação de trabalhos originais que contribuam para o progresso nos campos das Ciências Biológicas, Médicas e Químicas, elaborados por especialistas nacionais e estrangeiros.

São publicadas sob a orientação da Comissão Editorial, sendo que os conceitos emitidos são de inteira responsabilidade dos autores.

The "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN" are the vehicle of communication for original papers written by national and foreign specialists who contribute to the progress of Biological, Medical and Chemical Sciences.

They are published under the direction of the Editorial Board which assumes no responsibility for statements and opinions advanced by contributors.

Indexado/Indexed: Biosis Data Base, Current Contents, Index Medicus.

Periodicidade: irregular
Permuta/Exchange: são feitas entre entidades governamentais, com publicações congêneres, mediante consulta prévia. Exchanges with similar publications can be settled with academic and governmental institutions through prior mutual agreement.
Endereço/Address. Instituto Butantan – Biblioteca. Av. Vital Brasil, 1.500
05504 – São Paulo, SP – Brasil
Telefone/Telephone: (011) 813-7222 – R. 129 – Telex: (011) 83325 BUTA-BR
Telefax: (011) 815-1505



Governo do Estado de São Paulo
Secretaria de Estado da Saúde
Coordenação dos Institutos de Pesquisa
Instituto Butantan — São Paulo — SP — Brasil

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO BUTANTAN

Volume 52, número 3, 1990

São Paulo, SP — Brasil
1990



MEMÓRIAS do INSTITUTO BUTANTAN. (Secretaria de Estado da Saúde)
São Paulo, SP — Brasil, 1918 —

1918 — 1983/84, **1-47/48**
Publicação interrompida de 1985 a 1986.
1987-1989, **49-51**
1990, **52** (1-3
Em apenso, a partir de 1990, **52**(3): BOLETIM de BIOTECNOLOGIA.

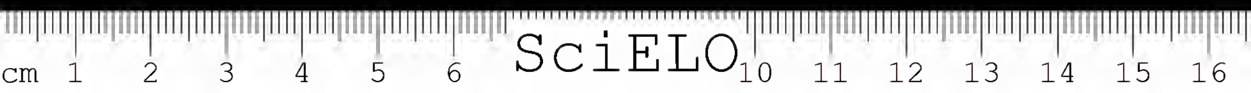
ISSN 0073-9901 CDD 614.07205
MIBUAH

Solicita-se permuta/Exchange desired



Mem. Inst. Butantan,
52(3), 1990

SUMÁRIO/CONTENTS


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
52(3): 73-79, 1990.

PRESAS GRANDES E SERPENTES JOVENS: QUANDO OS OLHOS SÃO MAIORES QUE A BOCA

Ivan SAZIMA*
Márcio MARTINS**

RESUMO: Cinco casos de colubrídeos jovens tentando ingerir presas exageradamente grandes, em encontros naturais ou provocados, são descritos do sudeste brasileiro: *Helicops modestus* (2), *Liophis almadensis, L. miliaris e Oxyrhopus guibei.* Tentativas de ingerir presas exageradamente grandes podem ser comuns em serpentes jovens que se alimentam de presas pouco perigosas, como anuros e peixes, habitualmente engolidas vivas. A manipulação de presas exageradamente grandes pode envolver desperdício de tempo e energia, além de aumentar o risco de morte por engasgamento ou predação. Entretanto, caso seja bem-sucedida, a serpente adquire quantidade considerável de energia de uma só vez (ainda que sua locomoção possa assim ser prejudicada). Esse comportamento pode estar relacionado a disponibilidade de presas, aprendizado em lidar eficientemente com presas e/ou otimização na aquisição de energia.
UNITERMOS: Colubridae, história natural, comportamento alimentar, fase juvenil.

INTRODUÇÃO

Serpentes são predadores que capturam presas relativamente grandes, ingeridas íntegras[7,11,23]. Estrutura, disposição e mobilidade dos ossos cranianos e da glote, bem como capacidade de distensão dos tecidos, são alguns dos atributos que permitem esses hábitos[1,11]. (A capacidade de ingerir uma dada presa é limitada pela relação entre o perímetro da região mais volumosa da presa e o grau de distensão da região cervical da serpente, no seu local mais estreito[15,16], bem como pela abertura bucal máxima[1]). A tendência a ingerir presas grandes por vezes é levada ao extremo, sendo conhecidos casos de serpentes encontradas mortas após abocarem presa acima da sua capacidade de ingestão[14,15,16,19].

* Departamento de Zoologia, Universidade Estadual de Campinas, 13081 Campinas, São Paulo.
** Pós-Graduação em Ecologia, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.
Recebido para publicação em 25/6/1990 e aceito em 1/8/1990.

O comportamento de capturar presas exageradamente grandes parece ser mais freqüente em indivíduos jovens[14], o que poderia ser parcialmente explicado pela menor disponibilidade de presas com porte adequado para esta fase de vida da serpente[23]. Além disso, abocar animais muito grandes pode representar um erro na avaliação do tamanho da presa, pela serpente[15,16].

Apresentamos aqui exemplos de serpentes jovens que capturaram presas exageradamente grandes e comentamos prováveis causas desse comportamento e suas desvantagens. Também, relacionamos essas capturas com o tipo de presa e o modo de subjugação usado pela serpente.

PROCEDIMENTO

Devido à casualidade de observações sobre atividade alimentar de serpentes[10,23], o presente estudo está baseado em registros feitos ao longo de cinco anos de atividade de campo, na região de Campinas, São Paulo (c. 22º 49' S, 47° 06' W). As ocorrências de predação foram estudadas em encontros naturais ou provocados na natureza[27] e as observações foram diretas, com amostragem de "todas as ocorrências"[21] e documentação fotográfica. Um espécime de *Helicops modestus* e sua presa, *Geophagus brasiliensis,* estão depositados no Museu de História Natural, Universidade Estadual de Campinas (ZUEC 642). As medidas usadas (cm) são comprimento total (CT) para as serpentes, comprimento rostro-anal (CRA) para os anuros, comprimento-padrão (CP) para os peixes e comprimento de cabeça mais corpo (CC) para os mamíferos. Os nomes dos animais seguem o uso corrente, com exceção da espécie de *Oxyrhopus:* o nome *O. guibei* é aqui usado para designar os espécimes do sudeste brasileiro, antes denominados de *O. trigeminus*[29].

RESULTADOS

Encontros naturais

Liophis almadensis (Pedro Américo, Campinas, São Paulo, 15 abril 1985, c. 1500h). Um jovem de *L. almadensis* (c. 35cm CT) foi encontrado mantendo presos, na mordida, o pé e a tíbia de um macho adulto de *Hyla albopunctata* (c. 5cm CRA), em meio à vegetação (Figura 1A). O anuro estava com os pulmões inflados e movimentava a perna livre, empurrando a cabeça da serpente; ocasionalmente emitia gritos de angústia ("distress call" cf. Hödl & Gollmann[18]), que levaram à descoberta do predador e sua presa. No decorrer da documentação, a serpente soltou o anuro e se afastou.

Helicops modestus (Sousas, Campinas, São Paulo, 8 maio 1988, c. 2000 h). Um jovem de *H. modestus* (17cm CT) foi encontrado abocando a cabeça de um espécime jovem de acará, *Geophagus brasiliensis* (3,5cm CP), na porção rasa de um açude. O peixe estava recém-morto, o que torna pouco provável a possibilidade de necrofagia, conhecida para essa serpente[28]. A serpente havia conseguido avançar suas maxilas somente pouco além do opérculo da presa (Figura 1B), soltando-a após passados c. 15 min de observação. Ambos os animais foram coletados.



Liophis miliaris (Santa Genebra, Campinas, São Paulo, 25 maio 1988). Um jovem de *L. miliaris*(c. 40cm CT) foi encontrado mantendo presos, na mordida, o pé e a tíbia e parte posterior do corpo de uma fêmea imatura de rã-pimenta, *Leptodactylus labyrinthicus* (c. 8cm CRA). O anuro não se movimentava e apresentava lacerações ao longo do flanco esquerdo, provavelmente causadas pelos avanços frustrados das maxilas da serpente. Após c. 20min adicionais de manipulação e tentativa de ingestão, sem avançar além da região abdominal do anuro, a serpente soltou a presa e afastou-se. O anuro apresentava laceração no ventre, expondo parte do intestino, tendo sido encontrado morto mais tarde.

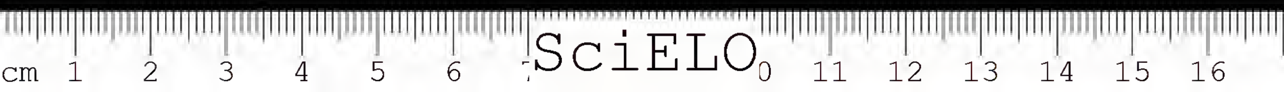
Encontros provocados

Helicops modestus (Sousas, Campinas, São Paulo, 29 outubro 1988, c. 2000h). Um jovem de *H. modestus* (c. 25cm CT) foi encontrado estacionário na parte rasa de um açude. Um exemplar jovem de *Geophagus brasiliensis* (5,5cm CP), atordoado por compressão da cabeça, foi colocado defronte à serpente, que abocou o peixe pela região anal. Em seguida soltou a presa para abocá-la na região cefálica, iniciando movimentos de ingestão. Conseguindo alcançar a região opercular, continuou com movimentos maxilares por alguns minutos, soltando a presa a seguir. Um segundo exemplar de *G. brasiliensis,* maior (7cm CP), foi oferecido à mesma serpente, tendo sido abocado em condições semelhantes às do peixe anterior. A serpente conseguiu abocar apenas parte da cabeça (Figura 1D), manipulou o peixe por c. 10 min e soltou-o a seguir.

Oxyrhopus guibei (Santa Genebra, Campinas, São Paulo, 14 fevereiro 1990, 1950h). Um jovem de *O. guibei* (63cm CT, 31 g) foi encontrado deslocando-se no chão de mata. Um macho adulto de camundongo, *Mus musculus* (9cm CC, 31g), foi solto próximo e à frente da serpente. O camundongo foi imediatamente perseguido pela serpente, abocado pela região escapular e constringido. Cerca de 3 min após, a serpente abocou a presa pela cabeça e iniciou os movimentos de ingestão. Ultrapassada a região do focinho da presa, a serpente fazia grande esforço para continuar a deglutição, as maxilas totalmente abduzidas e próximas do "ponto de ruptura" (cf. Arnold[1]) e a região gular muito distendida (Figura 1C). A serpente empurrava a cabeça contra a presa, retida entre as voltas do seu corpo, tendo refeito as voltas duas vezes, provavelmente num esforço de melhor ajeitar o camundongo. Após c. 25 min, a serpente pareceu perturbada e afastou-se, mantendo o camundongo na boca (nesse momento foi capturada para tomada de medidas).

DISCUSSÃO

Nos casos que relatamos, as serpentes eram jovens e estavam apresando suas presas habituais, porém exageradamente grandes. (Serpentes adultas também capturam presas acima da sua capacidade de ingestão[15,16,19], em especial as Boidae[2], porém esse comportamento parece ser menos freqüente que em jovens). O comportamento de capturar presas exageradamente grandes pode estar relacionado à menor disponibilidade de presas[9,23], bem como às maiores proporções da cabeça da serpente jovem[14], em relação às do adulto. Talvez esses fatores possam influir em erro de avaliação do tamanho da presa, como sugerido por Hailey & Davies[15,16].



SAZIMA, I. & MARTINS, M. Presas grandes e serpentes jovens; quando os olhos são maiores que a boca. Mem. Inst. Butantan, 52(3): 73 - 79, 1990.

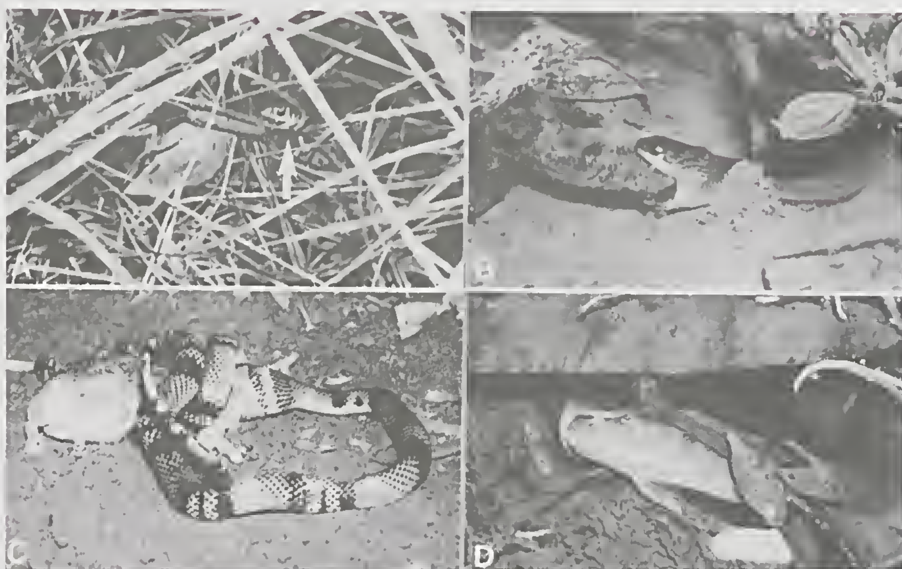


Fig. 1 — Exemplos de serpentes jovens capturando presas acima da sua capacidade de ingestão (A-B ocorrências naturais; C-D encontros provocados). *A: Liophis almadensis* (seta) retendo um macho adulto de *Hyla albopunctata; B: Helicops modestus* tentando engolir um jovem de *Geophagus brasiliensis;* C: *Oxyrhopus guibei* tentando engolir um macho adulto de *Mus musculus*, estando a abertura bucal da serpente próxima do "ponto de ruptura"; D: *Helicops modestus* abocando um adulto de *G. brasiliensis*, sem possibilidade sequer de acomodar as maxilas para o início da deglutição (compare com abertura bucal em B).

Em indivíduos jovens de diversas espécies de serpentes, foi demonstrada a existência de preferência inata por determinados tipos de presa, isto é, a escolha da presa habitual teria componentes geneticamente fixados[3,8,17,24]. Por outro lado, na escolha quantitativa (dimensões relativas da presa), podem influir tanto aspectos relacionados à experiência em lidar com a presa [22], como à otimização na aquisição de energia [15,16]. Parece-nos difícil reconhecer isoladamente esses ou outros componentes, cuja interação provavelmente é complexa [4,15,16].

As vantagens mais evidentes, de lidar com presas exageradamente grandes, seriam adquirir grande quantidade de energia de uma só vez e, assim, prevenir-se contra eventual escassez de alimento [15,16]. Entretanto, há diversas desvantagens; como maior vulnerabilidade a predadores e desperdício de tempo e energia [14]. O período de manipulação, com posterior rejeição, é variável [15,16] e pode representar desperdício. Mesmo que a serpente consiga engolir uma presa muito grande, o período de manipulação é muito superior ao habitual[1,15,16], aumentando sua exposição a predadores potenciais. Além disso, quanto maior a presa ingerida, presumivelmente mais prejudicada fica a locomoção da serpente[12]. Há ainda o risco "mecânico" durante ingestão e locomoção, oferecido por presas com estruturas rígidas e salientes ou pontiagudas, risco esse ampliado por presas exageradamente grandes.

As serpentes subjugam e matam suas presas por constrição, envenenamento, ou ambos os modos, ou então tragam as presas vivas[7,25]. Essas táticas podem estar relacionadas tanto a aspectos filogenéticos do predador, quanto ao tipo

de presa e o seu grau de periculosidade[5,6,13,25]. Acreditamos haver relação entre o modo que uma dada serpente emprega na subjugação de sua presa e a tendência a apresar presas exageradamente grandes.

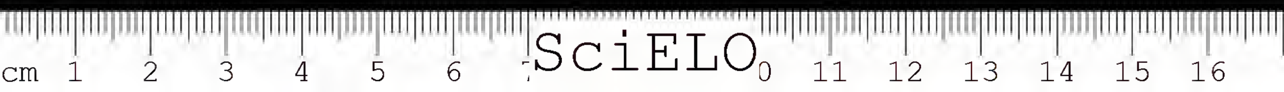
Aparentemente, o comportamento de capturar presas acima da sua capacidade de ingestão é mais freqüente em serpentes que se alimentam de presas pouco perigosas (como anuros e peixes) habitualmente engolidas vivas[1,14,15,16]. Acreditamos que a captura de presas exageradamente grandes seja menos freqüente em serpentes que lidam com presas mais perigosas, como roedores[5]. Nossa sugestão pode ser melhor fundamentada com observações de um número maior de espécies, com variados modos alimentares e táticas de subjugação da presa. Diversas serpentes viperídeas usam a tática de envenenar e soltar a presa[5,6,27] e possuem a capacidade de ingerir presas muito volumosas[26]. Essas características poderiam parecer favoráveis à tendência de capturar presas acima da capacidade de ingestão. No entanto, não temos conhecimento de que esse comportamento de fato ocorra, possivelmente devido a discriminação mais refinada, na escolha de presa, em Viperidae[6,20].

Em conclusão, o comportamento de capturar presas exageradamente grandes parece ser encontrado com maior freqüência em indivíduos jovens, de serpentes que se alimentam de presas pouco perigosas e habitualmente engolidas vivas. Esse comportamento, embora possa ocasionalmente trazer vantagens, também envolve riscos e desperdícios. Na captura de presas exageradamente grandes pode haver componentes relacionados a otimização na aquisição de energia, bem como aprendizado, no decorrer do desenvolvimento do indivíduo. Algumas das idéias que aqui apresentamos podem ser testadas com observações adicionais, incluindo estudo de serpentes comuns e de manutenção simples em cativeiro, como espécies de *Liophis* ou *Helicops*.

ABSTRACT: Five instances of young colubrid snakes attempting to eat exceedingly large prey, during natural or staged encounters in the field, are described from southeastern Brazil: *Helicops modestus* (2), *Liophis almadensis*, *L. miliaris*, and *Oxyrhopus guibei*. Attempts to take exceedingly large prey may be common in young snakes which feed on non-dangerous prey such as frogs and fishes, usually swallowed alive. Handling exceedingly large prey may involve time and energy waste, besides increasing the risk of death by choking or predation. However, if successful the snake can benefit from a considerable energetic intake at once (though its locomotion may thus become impaired). This behavior may be related to prey availability, to learning to handle prey efficiently, and/or to foraging optimization.
KEYWORDS: Colubridae, natural history, feeding behavior, juvenile stage.

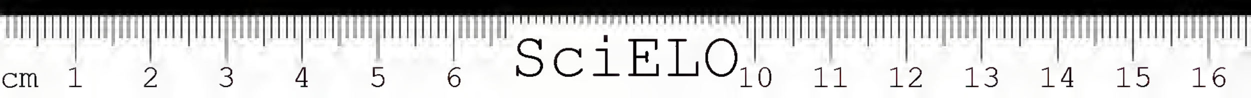
AGRADECIMENTOS

Somos gratos a Augusto S. Abe e Célio F.B. Haddad por valiosas críticas e sugestões ao manuscrito; Otávio C. Oliveira, Éllen C. Pombal, José P. Pombal Jr., Christine Strüssmann e os vigias da Mata de Sta. Genebra por auxílio no trabalho de campo; Fundação José Pedro de Oliveira e Sociedade dos Amigos do Jardim Botânico por permissão para estudos em terras sob sua responsabilidade; CNPq (proc. 300992/79) e FAP-UNICAMP (procs. 59/87 e 524/88) por auxílio financeiro (IS).

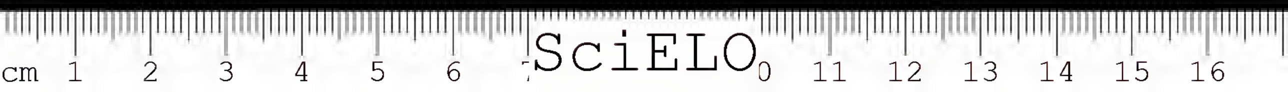


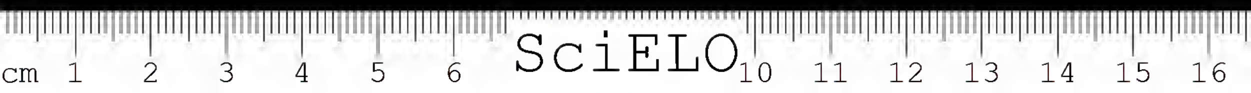
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARNOLD, S.J. Morphology, performance and fitness. *Amer. Zool., 23:347-361, 1983.*
2. BRANCH, W.R. & HACKE, W.D. A fatal attack on a young boy by an African rock python *Python sebae. J. Herpetol., 14:*305-307, 1980.
3. BURGHARDT, G.M. Chemical-cue preferences of inexperienced snakes: comparative aspects. *Science, 157:*718-721, 1967.
4. CAMPBELL, H.W. Prey selection in naive *Elaphe obsoleta* (Squamata: Serpentes) — A reappraisal. *Psychon Sci. 21:*300-301, 1970.
5. CHISZAR, D. & RADCLIFFE, C.W. The predatory strike of the jumping viper *(Porthidium nummifer).* Copeia, (4):1037-1039, 1989.
6. CHISZAR, D.; RADCLIFFE, C.W.; BYERS, T.; STOOPS, R. Prey capture behavior in nine species of venomous snakes. *Psychol. Rec., 36*:433-438, 1986.
7. DITMARS, R.L. The feeding habits of serpents. *Zoologica (N.Y.), 1*:197-238, 1912.
8. DUNBAR, G.L. Effects of early feeding experience on chemical preference of the northern water snake, *Natrix s. sipedon* (Reptilia, Serpentes, Colubridae). *J. Herpetol., 13*:165-169, 1979.
9. FITCH, H.S. Study of snake populations in central California. *Amer. Midl. Nat., 41*:513-579, 1949.
10. FITCH, H.S. Collecting and life-history techniques. In: SEIGEL, R.A.; COLLINS, J.T.; NOVAK, S.S. ed. *Snakes; ecology and evolutionary biology*. New York, MacMillan, 1987. p. 143-164.
11. GANS, C. The feeding mechanism in snakes and its possible evolution. *Amer. Zool., 1:217-227, 1961.*
12. GARLAND JR., T. & ARNOLD, S.J. Effects of a full stomach on locomotory performance of juvenile garter snakes *(Thamnophis elegans). Copeia*, (4):1092-1096, 1983.
13. GREENE, H.W. & BURGHARDT, G.M. Behavior and phylogeny: constriction in ancient and modern snakes. *Science, 200*:74-77, 1978.
14. GODLEY, J.S. Foraging ecology of the striped swamp snake, *Regina alleni*, in southern Florida. *Ecol. Monogr., 50*:411-436, 1980.
15. HAILEY, A. & DAVIES, P.M.C. Diet and foraging behaviour of *Natrix maura. Herpetol. J., 1*:53-61, 1986a.
16. HAILEY, A. & DAVIES, P.M.C. Selection of prey from groups: water snakes and fish. *Herpetol. J., 1*:71-77, 1986b.
17. HENDERSON, R.W.; BINDER, M.H.; BURGHARDT, G.M. Responses of neonate Hispaniolan vine snakes *(Uromacer frenatus)* to prey extracts. *Herpetologica, 39*:75-77, 1983.
18. HÖDL, W. & GOLLMANN, G. Distress calls in Neotropical frogs. *Amphibia-Reptilia, 7*:11-21, 1986.
19. HOWARD, W.E. Gopher snake killed trying to swallow cottontail. *Copeia*, (4):289, 1949.
20. KARDONG, K.V. Predatory strike behavior of the rettlesnake, *Crotalus viridis oreganus. J. Comp. Psychol., 100*:304-314, 1986.
21. LEHNER, P.N. *Handbook of ethological methods.* New York, Garland STPM, 1979.
22. MURPHY, J.B. & CAMPBELL, J.C. Captive maintenance. In: SEIGEL, R.A.; COLLINS, J.T.; NOVAK, S.S. ed. *Snakes; ecology and evolutionary biology.* New York, MacMillan, 1987. p. 165-181.
23. MUSHINSKY, H.R. Foraging ecology. In: SEIGEL, R.A.; COLLINS, J.T.; NOVAK, S.S. ed. *Snakes; ecology and evolutionary biology.* New York, MacMillan, 1987. p. 302-334.
24. MUSHINSKY, H.R. & LOTZ, K.H. Chemoreceptive responses of two sympatric water snakes to extracts of commonly ingested prey species. *J. Chem. Ecol., 6*:523-535, 1980.
25. PARKER, H.W. & GRANDISON, A.G.C. *Snakes; a natural history.* London, British Museum (Nat. Hist.) & Ithaca, Cornell Univ., 1977.



26. POUGH, F.H. & GROVES, J.D. Specialization of the body form and food habits of snakes. *Amer. Zool., 23:*443-454, 1983.
27. SAZIMA, I. Comportamento alimentar da jararaca, *Bothrops jararaca:* encontros provocados na natureza. *Cienc. Cult., 41*:500-505, 1989.
28. SAZIMA, I. & STRüSSMANN, C. Necrofagia em serpentes brasileiras: exemplos e previsões. *Rev. bras. Biol., 50*:463-468, 1990.
29. ZAHER, H. & CARAMASCHI, U. A identidade específica de *Oxyrhopus trigeminus* e *O. guibei* (Ophidia: Colubridae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 16., João Pessoa, Paraíba, 1989. Resumos. João Pessoa, 1989, p. 75-76.




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
52(3): 81-86, 1990

MALOCLUSÃO DENTÁRIA EM COLÔNIA DE COBAIAS (*CAVIA PORCELLUS*)*

Luziane C.A.G. CHAGURI
Sueli Blanes DAMY
Ubimara P. RODRIGUES
Fernando SOGORB S.

RESUMO: Surtos de uma síndrome mencionada na literatura como maloclusão dentária foi verificada em cobaias do Biotério Geral do Instituto Butantan entre janeiro de 1986 a junho de 1990. Os resultados evidenciam correlação positiva entre o aparecimento do surto com o consumo da ração de determinados moinhos. Os autores relacionam o fato à intoxicação crônica pelo flúor associado à hipovitaminose C.
UNITERMOS: Cobaias, maloclusão dentária, flúor, vitamina C.

INTRODUÇÃO

Surtos de uma síndrome mencionada na literatura como maloclusão dentária ou "baboseira", cujos sintomas são aumento do crescimento dos dentes, dificuldades de apreensão e deglutição dos alimentos, perda de peso, pelagem áspera, sialorréia intensa, dispnéia, caquexia, convulsão na fase final, com evolução de cinco a 20 dias, foram descritos por vários autores[5,6,11,12], correlacionando-os à deficiência ou excesso de algum componente na ração, presença de substâncias tóxicas, ou origem genética[7,9,11,14,15].

A etiologia nutricional fundamenta-se na observação de surtos da doença em colônias alimentadas com ração contendo flúor em altos níveis[5] originário de rochas fosfatadas, cujos sintomas correlacionam-se com intoxicação crônica por aquela substância[1].

Observou-se, ainda, similaridade entre sintomas de fluorose crônica e escorbuto em cobaias, uma vez que o flúor parece interferir com o ácido ascórbico nas suas funções no organismo[8,12].

Excesso de gordura, insuficiência de cálcio e vitaminas foram relacionados com o aparecimento da doença[4]. Algumas estruturas ósseas e dentárias se alteram

* Trabalho apresentado no 1º Congresso Brasileiro de Animais de Laboratório, Salvador, Bahia
Seção de Biotério Geral. Instituto Butantan.
Recebido para publicação em 09/8/1990 e aceito em 01/10/1990.

nos casos de fluorose assim como avitaminoses A,C e D. Entretanto, inter-relações básicas entre estes componentes continuam desconhecidas e em nenhuma espécie foi possível curar ou prevenir fluorose por meio da administração destas vitaminas[8].

Na colônia de cobaias do Biotério Geral do Instituto Butantan, casos de animais com sintomas semelhantes à síndrome descrita observavam-se desde janeiro de 1986, quando se utilizava ração comercial balanceada para esta espécie, fabricada pelo moinho A. Em dezembro de 1987, o fornecimento passou para o moinho B, tendo-se observado um aumento do número de casos, atingindo níveis elevados entre junho e agosto de 1988. Entretanto, com nova alteração do fabricante, para o moinho C, o número de casos foi diminuindo gradativamente, desaparecendo por completo 15 dias após a introdução da mesma, permanecendo neste patamar.

Com o retorno da ração fabricada pelo moinho A, em agosto de 1989, observou-se novo surto, com subseqüente diminuição e desaparecimento do número de casos, após 15 dias da introdução da ração fabricada pelo moinho D, em dezembro de 1989 e moinho C em março de 1990.

Assim, o presente trabalho tem como objetivo detectar a etiologia desta síndrome.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante o período de janeiro de 1986 a junho de 1990 foram observadas uma média mensal de 3.000 cobaias, albinas, não consangüíneas, raça inglesa, acasaladas em regime poligâmico de cinco fêmeas e um macho, criadas em gaiolas de polipropileno, com cama de maravalha de pinho. A higienização consistiu em duas trocas de gaiolas semanais, sendo as mesmas submetidas à desinfecção com detergente e água sob pressão a aproximadamente 80°C.

Ração e água foram fornecidos ad libitum e forragem verde irregularmente. No período de observação a ração teve quatro origens, com amostras submetidas a análise química, bromatológica e microbiológica pelo Instituto Adolfo Lutz.

Os animais mortos com sintomatologia característica da síndrome foram necropsiados e fragmentos de órgãos conservados em formol a 10% foram encaminhados para exame histológico na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e Instituto Biológico.

RESULTADOS

Na necrópsia observou-se:

A: *MACROSCOPICAMENTE*: grave depleção de depósitos de gordura, aumento de conteúdo gastrintestinal, hemorragias petequiais subcutâneas; fígado e glândulas adrenais aumentados de tamanho; rins, intestino delgado, útero, pulmão e caixa torácica hemorrágicos; caquexia. Na cavidade bucal: gengivas hemorrágicas, dentes molares inferiores com supercrescimento em direção à língua; os superiores, com supercrescimento em direção ao palato duro (Fig. 2), estas alterações provocavam a maloclusão dos incisivos, impedindo a deglutição pela impossibilidade de livre movimentação da mandíbula e língua. Em conseqüência a saliva flui para o exterior, umedecendo as regiões mentoniana, ântero-cervical, peitoral e ântero-abdominal (Fig. 1), com mau odor e cor esverdeada, constituindo o principal sinal desta síndrome.

B:*MICROSCOPICAMENTE*:: o exame histológico indicou na maioria dos casos: pneumonia intersticial de discreta a intensa; hemorragia pulmonar; edema



Fig. 1. Aspecto ventral de uma cobaia apresentando a síndrome de maloclusão.



Fig. 2. Vista lateral do crescimento divergente dos dentes molares superiores e convergentes dos inferiores.

pulmonar; nefrose tubular; hemorragia renal focal; hemorragia glomerular; degeneração vacuolar hepática; hepatite focal crônica; enterite crônica com necrose de vilosidades intestinais; hemorragias periadrenais.

C: *RAÇÕES:* os resultados estão representados na tabela 1

TABELA 1
Análise química, bromatológica e microbiológica das rações, 1990.

DETERMINAÇÕES DIVERSAS	RAÇÕES			
	A	B	C	D
GRAMA/CENTO				
Substâncias voláteis a 105°C	9,95	8,33	11,10	7,58
Carboidratos totais	53,57	56,19	52,94	54,91
Extrato etéreo	7,89	5,52	4,04	3,69
Protídios	18,35	22,19	26,66	24,71
Resíduo mineral fixo	8,17	8,59	8,96	—
Cálcio	—	1,30	1,10	—
Fósforo	—	0,76	0,70	—
Flúor (mg/quilo)	*	*	*	*
Nº DE BACTÉRIAS/GRAMA				
Em placa a 37°C/48 horas	$1,1x10^5$	$1,2x10^4$	$5,4x10^2$	$1,3x10^4$
Grupo coliforme	5,30	24,00	0,91	9,30
Grupo coliforme de origem fecal	neg.	neg.	neg.	neg.
Salmonela sp	neg.	neg.	neg.	neg.

* Flúor não detectado. Sensibilidade do método 5,0 mg/kg.

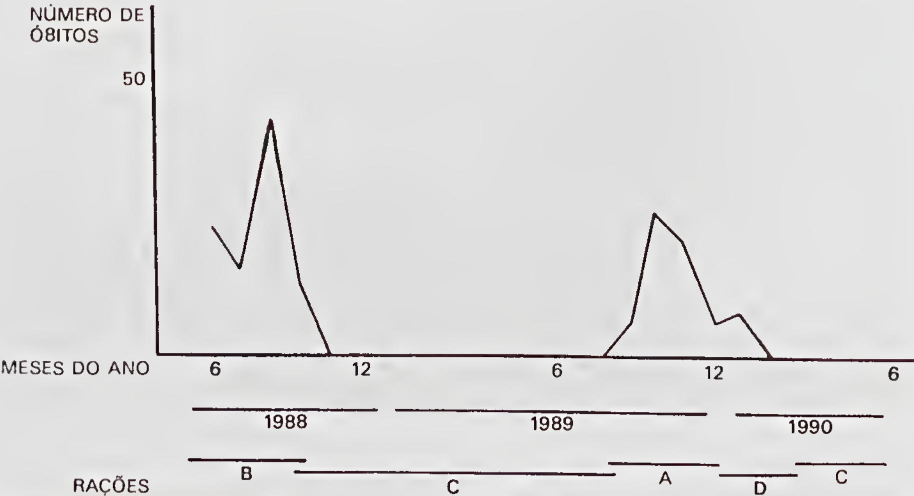


Fig. 3. Inter-relação entre surtos de maloclusão, meses do ano e fabricantes de ração fornecidas às cobaias do Biotério Geral, Instituto Butantan, SP, 1990.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

As alterações macro e microscópicas verificadas são idênticas às encontradas por diversos autores. Pesquisas[13] indicaram o surto não determinando a etiologia. Outro trabalho[11] atribuiu a fator não identificado presente na ração. Outros autores[6,7] concluíram que a síndrome era sugestiva de fluorose crônica, acompanhada por alterações dependentes de hipovitaminose C subaguda. Entretanto, outro autor[15] comprovou origem genética em colônia de cobaias isogênicas.

Hemorragias gengivais, pulmonar, renal, glomerular, subcutâneas e intestinais sugerem quadro de hipovitaminose C[3,16].

Nefrose tubular, hemorragia renal focal, hemorragia glomerular, degeneração vacuolar hepática são compatíveis com intoxicação crônica por flúor[10].

Os resultados das análises das rações indicam que as mesmas não apresentavam quantidades altas de flúor, quando comparadas ao encontrado por um autor[5], onde houve um aumento de 38 para 300ppm na quantidade deste elemento.

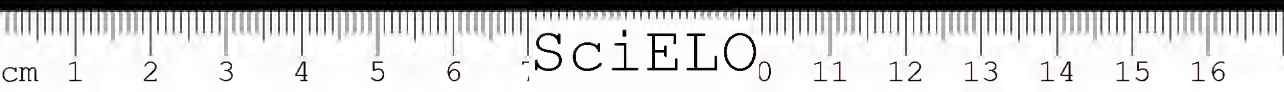
A etiologia genética foi eliminada por trabalhos preventivos de controle e seleção, e também quando cobaias originárias de outras colônias apresentaram sintomas da síndrome.

A análise da figura 3, entretanto, evidencia correlação positiva entre o aparecimento do surto da doença com o consumo da ração de determinados moinhos. O fato da dosagem de flúor encontrada nas rações ser mais baixa do relatado por outros autores[7,5] não permite eliminar uma provável intoxicação crônica, dada a sensibilidade das cobaias a baixos níveis de flúor[7] associados à inabilidade de este animal sintetizar vitamina C[2]. Por outro lado, variações podem ser devidas a diferentes origens do mineral flúor.

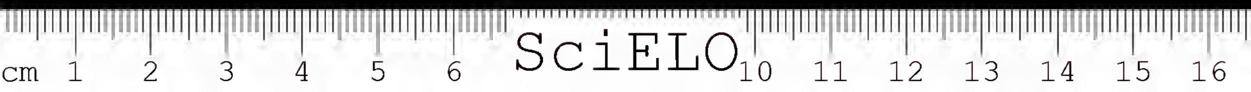
ABSTRACT: An outbreak of a syndrome mentioned in the literature as malocclusion was noted in the guinea-pigs of the Biotério Geral - Instituto Butantan, from january 1986 until june 1990. The results make evident the relation between consumption of commercial diet from certain producers. The authors relating this fact to a chronic fluorosis associated with the vitamin C deficiency.
KEYWORDS: Guinea-pigs, malocclusion, fluor, vitamin C.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

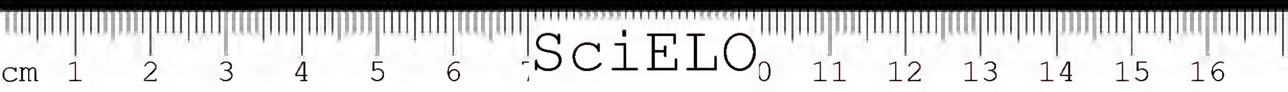
1. BHUSSRY, B.R. et al. Efectos tóxicos de las grandes dosis de fluoruro. In: ADLER, P. et al. ed. *Fluoruros y Salud.* Ginebra, OMS, 1972. p. 231-281.
2. CHATTERJEE, I.B. *et al.* Aspects of ascorbic acid biosynthesis in animals. *Ann.N.Y.Acad.Sci.*, *92*:36-53, 1961.
3. COATES, M.E. Transtornos nutricionales. In: HIME, J.M. & O'DONOGHUE, P.N. *Patologia de los animales de laboratório.* Zaragoza, Acribia, p. 16-46.
4. CREMER, H.D. & BUTTNER, W. Absorción de los fluoruros. In: ADLER, P. et al. *Fluoruros y Salud.* Ginebra, OMS, 1972. p. 75-91.
5. CRUISKSHANKS, J. & BLAIN, T.M. Chronic fluorosis in guinea-pigs bred in Australia. *J.Inst.Anim.Tech.*, *27* (2):94-99, 1976.
6. HARD, G.C. & ATKINSON, F.F.V. "Slobbers" in laboratory guinea-pigs as a form of chronic fluorosis. *J. Pathol. Bacteriol.*, *94*:95-102, 1967.
7. HARD, G.C. & ATKINSON, F.F.V. The aetiology of "slobbers" (Chronic fluorosis) in the guinea-pigs. *J.Pathol.Bacteriol.*, *94*:103-112, 1967.

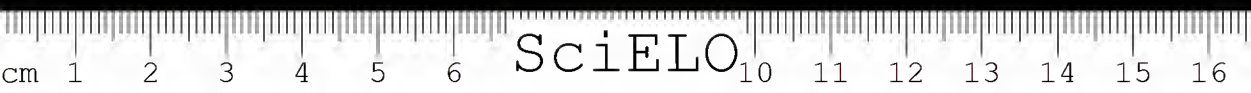


8. JENKINS, G.N. et al. Efectos fisiologicos de las pequeñas dosis de fluoruro. In: ADLER, P. *Fluoruros y Salud.* Ginebra, OMS, 1972. p. 165-229.
9. NAVIA, J.M. & HUNT, C.E. Nutrition, nutritional disease and nutritional research applications. In: WAGNER, J.E. & MANNING, P.J. The biology of the guinea-pigs. New York, Academic Press, 1976. p. 257.
10. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ. *Fluor et fluorures.* Genève, OMS, 1985. p. 62 (Critères d'hygiene de l'environnement, 36).
11. PATERSON, J.S. The role of an adequate diet in the production of Healthy guinea--pigs. *Proc.Nutr.Soc. 16*:83-87, 1957.
12. PHILLIPS, P.H. *et al.* A study of tissue respiration and certain reducing substances in chronic fluorosis and scurvy in the guinea-pigs. *J.Biol.Chem., 106*:41-61, 1934.
13. PIRTLE, R.C. & McKEE, A.P. An epizootic of unknown etiology in guinea-pigs. *Proc.Soc. Exp. Biol. Med., 77*:425-429, 1951.
14. REID, M.E. *et. al.* Nutritional studies with the guinea-pigs. *J.Nutrit., 59*:103-119, 1955.
15. REST, J.R. *et al.* Malocclusion in inbread strain-2 sealing guinea-pigs. *Lab. Anim., 16*:84-87, 1982.
16. SAAD, N.A. & De ANGELIS, R.C. Gingival epithelium in scorbutic guinea-pigs. *Arch.Latinoamericanos de Nutrition, 24:*131-146, 1974.



COLETÂNEA DE RESUMOS DE TRABALHOS PUBLICADOS PELOS PESQUISADORES DO INSTITUTO BUTANTAN (1989)




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
52(3): 89-105, 1990.

COLETÂNEA DE RESUMOS DE TRABALHOS PUBLICADOS PELOS PESQUISADORES DO INSTITUTO BUTANTAN (1989)

1. ABDALLA, F.M.F.; HIRAICHI, E.; PICARELLI, Z.P.; PREZOTO, B.C.
Kallikrein-kinin system in the plasma of the snake *Bothrops jararaca*.
Brit. J. Pharmacol., 98: 252-58, 1989.

Abstract:

1 — Bothrops jararaca venom (BJV) caused a fall in the carotid artery blood pressure of the anaesthetized snake. This effect was tachyphylactic and was potentiated by captopril, a kininase II inhibitor; it was partially antagonized by promethazine plus cimetidine and was not affected by atropine.

2 — Similar hypotensive effects were obtained by administration of trypsin or a partially purified BJV kininogenase to the snake.

3 — Incubation of *Bothrops jararaca* plasma (BJP) with trypsin released a substance (or substances) that produced hypotension in the snake but not in the rat; this hypotensive effect was also potentiated by captopril.

4 — The trypsinised plasma contracted *Bothrops jararaca* isolated uterus, a pharmacological preparation weakly sensitive to bradykinin. Trypsinised plasma was inactive on pigeon oviduct and rat uterus and displayed a weak action on the guinea-pig ileum. Similar effects were observed with incubates of a fraction of BJP, containing globulins, with a partially purified BJV kininogenase.

5 — Like mammalian kinins, the substance(s) was(were) dialysable, thermostable in acid but not in alkaline pH, and inactivated by chymotrypsin but not by trypsin. Its(their) inactivation by BJP or BJP kininase II was inhibited by captopril.

6 — These findings strongly suggest that, besides releasing histamine, BJV or trypsin release a kininlike substance (or substances) from the snake plasma.

7 — Since BJV and other kininogenases active on mammalian plasmas were shown to be unable to release kinins from BJP, in experiments conducted on pharmacological preparations suitable for the assay of mammalian kinins, these data also suggest that the snake *Bothrops jararaca*, like birds, may have developed its own kallikrein-kinin system.

Resumo:

1 — O veneno de *Bothrops jararaca* (BJV) causa uma queda da pressão arterial da serpente anestesiada. Esse efeito foi taquifilático e potenciado por captopril, um inibidor de cininase II; foi parcialmente antagonizado por prometazina + cimetidina e não foi afetado por atropina.

2 — Efeito hipotensor semelhante foi obtido por administração de tripsina ou de uma cininogenase de BJV, parcialmente purificada, à serpente.

3 — Incubação do plasma de *Bothrops jararaca* (BJP) com tripsina produz liberação de substância(s) que causa(m) hipotensão na própria serpente mas não no rato, este efeito hipotensor também foi potenciado por captopril.

4 — O plasma de *Bothrops jararaca* tripsinizado contraiu o útero isolado da serpente, uma preparação farmacológica muito pouco sensível à bradicinina. O plasma tripsinizado foi inativo em oviduto de pomba

e útero de rata e teve fraca atividade no íleo de cobaia. Efeitos semelhantes foram observados com incubados de uma fração de BJP, que contém globulinas, com a cininogenase de BJV, parcialmente purificada.

5 — Do mesmo modo que as cininas de mamíferos, a(s) substância(s) foi(ram) dializável(eis), termoestável(eis) em pH ácido mas não em pH alcalino e inativada(s) por quimotripsina mas não por tripsina. Sua ativação por BJV ou cininase II de BJP foi inibida por captopril.

6 — Estes dados sugerem que, além de liberar histamina, BJV ou tripsina liberam do plasma da serpente uma substância (ou substâncias) semelhante(s) a cininas.

7 — Uma vez que já havia sido demonstrado, em experimentos feitos com preparações farmacológicas usadas para ensaio de cininas de mamíferos, que BJV e outras cininogenases ativas sobre plasma de mamíferos eram incapazes de liberar cininas de BJP, os dados acima também sugerem que a serpente *Bothrops jararaca*, como as aves, desenvolveu um sistema calicreína-cininas próprio.

2. BRODSKYN, C.I.; SILVA, A.M.M.; TAKEHARA, H.A.; MOTA, I.
IgC subclasses responsible for immune clearance in mice infected with *Trypanosoma cruzi*.
Immunol. Cell. Biol., 67:343-348, 1989.

Abstract: To examine the role of different immunoglobulin subclasses in the immune clearance of *Trypanosoma cruzi*, mice containing bloodstream trypomastigotes were injected intravenously with immune serum, IgG-depleted serum, or with the IgG1 or IgG2 fractions and the rate of removal of the parasites from circulation was determined. Using IgG concentrations similar to those found in the immune serum, the rate of clearance mediated by IgG2 was six-fold higher than that obtained with IgG1. This difference did not appear to be due to differences in antibody specificity, as Western blotting showed that each isotype recognized a similar set of antigens extracted from the parasite. However, the *T. cruzi* specific antibody content of the IgG2 was approximately five-fold higher than IgG1. When the dose of IgG was adjusted to equalize the antibody content, the clearance ability of the IgG1 and IgG2 was very similar. It is concluded that the two subclasses have a similar clearance ability.

Resumo: A fim de examinar a função das diferentes subclasses de imunoglobulinas no "clearance" imune dos tripomastigotas sangüíneos do *T. cruzi* (Btrys) camundongos contendo Btrys na circulação foram injetados por via intravenosa com soro anti-*T. cruzi* não tratado ou depletado de IgG ou com as frações IgG1 ou IgG2 obtidas do mesmo e a velocidade de remoção dos parasitas da circulação determinada em cada situação. Usando-se concentrações de IgG semelhantes àquela encontrada no soro imune, a velocidade do clearance mediado por IgG2 foi 6 vezes mais rápida do que aquela obtida por IgGl. Esta diferença não parece ser devida a diferenças na especificidade dos anticorpos desde que análise por Western blotting mostrou que cada isótipo reconhece os mesmos antígenos parasitários. Entretanto, o conteúdo em anticorpo específico da IgG2 foi aproximadamente 5 vezes maior do que o da IgG1. Quando a dose de IgG1 ou IgG2 aplicada foi ajustada para igualar o teor de anticorpo a capacidade de clearance da IgG1 e IgG2 foi igual. Sugere-se que as duas subclasses têm o mesmo poder de clearance.

3. BRUNNER JR., A.
Ultrastructural aspects of the final stage of hemoglobin biosynthesis.
Brazilian J. Med. Biol. Res., *22*:1051-1064, 1989.

Abstract: Electron microscopic observations on rabbit embryo, adult rabbit, guinea pig, and human immature erythroid cells showed characteristic hemoglobinized organelles distinguisheable from mitochondria by their highly dense matrix, two or three longitudinally arranged double lamellae, and smaller diameters. The presence of hemoglobin (Hb) within those organelles was also demonstrated by electrophoresis of the concentrated supernatant from the isolated, washed and osmotically lysed organelle fraction. The term hemosome has been suggested for these organelles due to their Hb content. We propose that they are the sites of heme integration into the four polypeptide globin chains.
The frequency of hemosomes is higher in the peripheral blood erythroid cells of embryos than in the liver erythroid cells, coinciding with the higher Hb synthesis rate in peripheral blood than in the liver. Peripheral blood reticulocytes of rabbits with anemia induced by bleeding presented a lower hemosome frequency than normal reticulocytes. The decrease paralleled the decay of Hb biosynthesis activity. Moreover, Hb biosynthesis induced in HeLa cells and epithelial cell tissue cultures was always associated with the formation of hemosomes.
Hemosomegenesis was studied in epithelial tissue culture cells experimentally induced to synthesize Hb, allowing the identification of several stages of hemosome formation in erythroid cells. The morphological data suggest that mitochondria are successively modified to lamellated bodies, prehemosomal vesicles, prohemosomes and hemosomes.
These organelles have also been detected in erythroid cells of representative specimens from other vertebrate classes.

Resumo: Observações letromicroscópicas em células eritróides imaturas de embrião de coelho, coelho adulto, cobaia e humanas mostraram organelos hemoglobinizados característicos, distinguíveis das mitocôndrias pela sua matriz de elevada densidade, por conterem duas ou três lamelas duplas dispostas longitudinalmente e por apresentarem diâmetros menores. A presença de hemoglobina (Hb) nesses organelos foi também demonstrada por eletroforese do sobrenadante concentrado dos organelos isolados, lavados e lisados osmoticamente. Foi sugerido o termo hemossomo para esses organelos devido ao seu conteúdo em Hb. Propusemos a hipótese segundo a qual o hemossomo seria a entidade morfológica em que ocorreria a integração do grupo hemo às quatro cadeias polipeptídicas de globina.
A freqüência de hemossomos nas células eritróides do sangue periférico de embriões é maior que nas células eritróides do fígado, coincidindo com a maior atividade de síntese de Hb no sangue periférico comparativamente ao fígado. Reticulócitos do sangue periférico de coelhos com anemia induzida por sangrias sucessivas apresentaram uma freqüência de hemossomos significativamente menor que em reticulócitos de coelhos nor-

mais. Esta diminuição em hemossomos por reticulócito é acompanhada por uma queda de atividade na síntese de Hb. Além disso, a biossíntese de Hb induzida em células HeLa e em células epiteliais, em cultura de tecidos, mostrou uma constante associação com a formação de hemossomos.
A hemossomogênese foi estudada em cultura de tecido de células epiteliais experimentalmente induzidas à biossíntese de Hb, possibilitando a identificação das várias fases de formação do hemossomo nas células eritróides. Os dados morfológicos sugerem que as mitocôndrias são modificadas, sucessivamente, em corpos lamelados, vesículas prehemossômicas, prohemossomos e hemossomos. Estes organelos têm sido detectados também em células eritróides de espécimes representativos de outras classes de vertebrados.

4. CARMONA, E.; ARAUJO-VIEL, M.S.; PICARELLI, Z.P.; PRADO, E.S.
Bothropain: a novel cysteine peptidase from plasma of the snake *Bothrops jararaca*.
Comp. Biochem. Physiol., *93B*(4):781-788, 1989.

Abstract: 1. Bothropain, a novel cysteine peptidase isolated from *Bothrops jararaca* plasma, was shown to be a 780kDa glycoprotein, not dissociated by SDS.
2. Inhibition of bothropain was complete with low M_r cysteine proteinase inhibitors but only partial with kininogens. L-trans-epoxysuccinyl-L-leucylamido-(4-guano)-butane was used for the enzyme active site titration.
3. Primary specificity of bothropain for arginine and lysine was demonstrated in the hydrolysis of peptidyl-4-nitroanilides and oligopeptides. Protein substrates for bothropain were not found yet.

Resumo: 1. Foi demonstado que a bothropaina, uma nova peptidase isolada do plasma de *Bothrops jararaca*, é uma glicoproteína de 780kDa, não dissociada por SDS.
2. Bothropaina foi completamente inibida por inibidores de cisteino-proteinases de baixo peso molecular, mas apenas parcialmente inibida por cininogênios. L-trans-epoxysuccinil-L-leucilamido-(4-guano)-butano foi usado para a titulação do sítio ativo da enzima.
3. A especificidade primária da bothropaína por arginina e lisina foi demonstrada pela hidrólise de peptidil-4-nitroanilidas e oligopeptides. Ainda não foram encontrados substratos protéicos para bothropaina.

5. CARNEIRO, C.R.M.; SARUWATARI, A.A.; RAW, I.; SCHMIDT, B.J.; DIAMENT, A.J.
Lithium — a new method for the release of lysosomal enzymes for the diagnosis of inborn errors.
In: SCHMIDT, et al. eds. Current trends in infanti screening. Amsterdam, Elsevier Science Publishers, 1989. p. 419-422.

Abstract: It was shown that incubation of leukocytes with 20 mM lithium acetate releases lysosomal enxymes. Hexosaminidases and arylsulfatases was measured in lekocytes treated with lithium and by sonnication, showing identical results.

Resumo: Foi demonstrado que a incubação de leucócitos com 20mM de acetato de lítio libera enzimas lisossômicas. Hexosaminidases e arylsulfatases foram medidas em leucócitos tratatos com lítio e por sonicação, mostrando resultados idênticos.

6. CHUDZINSKI, A.M.; SAMPAIO, M.U.; OLIVA, M.L.V.; SAMPAIO, C.A.M.
A *Bothrops jararaca* plasma cysteine-proteinase inhibitor related to mammalian kininogen.
Brazilian J.Med.Biol.Res., 22:945-948, 1989.

Abstract: A kininogen-like protein was purified from *Bothrops jararaca* plasma by DEAE-Sephadex ion-exchenge and carboxy-methyl-papain-Sepharose affinity chromatography. The molecular weight, estimated by SDS-gel electrophoresis, is about 100,000 and a species of about 75,000 is formed after incubation with horse urinary kallikrein. After incubation with trypsin, only traces of biological activity were detected in tests on guinea pig ileum. The purified protein inhibits papain and bromelain, does not correct the clotting time of a kininogen-depleted human plasma, and does not affect the clotting time of plasma from *Waglerophis merremii*, a nonpoisonous snake; the same type of inhibitor was found in this nonpoisonous snake. The dissociation constant (Ki) for the papain-inhibitor complex is approximately 1.6 nM.

Resumo: Uma proteína com características semelhantes ao cininogênio foi purificada do plasma de *Bothrops jararaca* por cromatrografia de troca iônica em DEAE-Sephadex e de afinidade em carboximetil-papaína--Sepharose. O peso molecular estimado por eletroforese em gel de poliacrilamida-SDS é de cerca de 100 KDa e uma banda de cerca de 75 KDa é formada após a incubação com calicreína urinária eqüína. Após incubação com tripsina, apenas traços de atividade biológica foram detectados no teste em íleo isolado de cobaia. A proteína purificada inibe papaína e bromelaína, não corrige o tempo de coagulação de um plasma humano depletado de cininogênio, e não afeta o tempo de coagulação do plasma de *Waglerophis merremii*, uma serpente não peçonhenta; um inibidor similar foi encontrado no plasma desta serpente não peconhenta. A constante de dissociação (Ki) para o complexo papaína-inibidor é de aproximadamente 1,6 nM.

7. CIANCIARULLO, A.M.; SPADACCI MORENA, D.D.; MORENA, P.; JARED, C.; BRUNNER JR., A.
Comparative ultrastructure of maturing toad (*Bufo ictericus*) and rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) erythroid cells with regard tohemoglobin biosynthesis.
Comp. Biochem. Physiol. 94A(3):525-529, 1989.

Abstract: Toad and rabbit maturing erythroid cells were comparatively analysed with regard to their ultrastructural modifications involved in hemoglobin (Hb) biosynthesis. The mitochondrial inner membrane differentiates to a lamellated body that, successively, gives rise toprehemosomal vesicles, prohemosomes, and to

hemoglobinized orgenelles called hemosomes. The prehemosomal vesicle involves ferruginous inclusions, taken as iron sources for heme biosynthesis, as well as the polypeptidic globin chains, assembling themselves in the course of volume reduction. From the prohemosomel stage onwards, where possibly heme biosynthesis occurs, hemosomes are formed; these orgenelles ere presumebly sites where the final Hb biosynthesis could take plece.All development stages leading to hemosome formation ere similar in toad end rabbit erythroid cells, except that in the toad, the structural prohemosome cherecteristics persist in hemosomes. Through toad erythoid cell frectionation end eletroforesis of the organelle lysate supernetant, e wide a weak cytoplesmic Hb bands were obtained; the letter coincides with the intreorgeneller Hb bend.

Resumo: Células eritróides imetures de sapo e coelho forem enalisades comperativemente quento às modificeções ultra-estruturais envolvides ne biossíntese de hemoglobine (Hb). A membrana mitocondriel interne diferencia-se em corpo lamelado que se modifica, sucessivamente, em vesículas prehemossômicas, prohemossomos e em organelos hemoglobinizedos, chamados hemossomos. A vesícule prehemossómice envolve inclusões ferruginosas, considerededes como fonte de ferro para e biossíntese de hemo, assim como es cadeias polipeptídicas de globine, aproximando-as no decorrer da redução em volume. Da fase prohemossômice em diente, na qual possivelmente ocorre e biossíntese, de hemo, hemossomos são formados; nestes organelos ocorrerie, presumivelmente, e biossíntese finel da Hb.
Todas es fases de desenvolvimento que levem à formeção do hemossomo são similares nas célules eritróides do sepo e do coelho, exceto que no sapo as ceracterístices estruturais do prohemossomo persistem no hemossomo. Atrevés do fracionemento des célules eritróides do sapo e eletroforese do sobrenadante do lisado dos organelos, uma forte e outra frace bandas de Hb citoplasmática foram obtidas; esta última coincide com a benda de Hb intra-organelar.

8. DAIMON,T. & SANO-MARTINS,I.S.
Alterations of wheat-germ agglutinin binding pattern on cell surface of blood platelets after thrombin stimulation.
Histochemistry, *91*:461-467, 1989.

Abstract: An ettempt wes mede to demonstrate wheate-germ egglutinin (WGA) binding sites on platelet surfaces after thrombin stimulation, by means of a post-embedding cytochemical technique using colloidel gold as merker at an ultrastructural level. In unstimulated platelets washed with EDTA, an intense uniform labeling of WGA-gold complexes was found on the surface membrane. When washed platelets were stimulated by thrombin in the ebsence of Ca^{2+}, only a releese reection was induced. WGA labeling on the surfece membranes of these platelets decreased drematicelly. However, the labeling intensity of WGA-gold complexes on the surface membrane of aggregated platelets induced by thrombini the presence of Ca^{2+} increased significantly compared to that of thrombin-stimulated platelets in the absence of Ce^{2+}. In contrast to the uniform labeling on the surface membranes of unstimuleted platelets, clusters of gold label were often found on the surface membrene of the eggregated pletelets, although there wes no significant quentitetive difference in the labeling intensity between these two groups. Thus, we present direct morphologicel evidence demonstreting qualitative and quentitative alterations of WGA lebeling on the surface membrane of platelets after thrombin stimuletion. The possibility is considered that WGA-binding glycoproteins in the surface membrane are involved in the aggregation response after thrombin stimulation.

Resumo: Foi feito um estudo ultre-estrutural das ligações de lectine WGA nas membranas das plaquetas humanas após ativação por trombina utilizando-se da técnica citoquímica de pós-embebição e usando-o ouro coloidal como marcador.
As plaquetes levedas e não ativadas epresentarem uma marcação intensa, com distribuição uniforme de WGA ne surperfície da membrene. Ouendo estas plaquetas forem estimuladas por trombina ne eusência de Ca^{2+}, verificou-se secreção de substâncias intraplequetárias, porém não houve egregeção. As ligações de WGA ne membrana desses plaquetas diminuíram significativamente quando comparadas com plaquetes não ativadas e, também, com es agregadas por trombina. Ao contrário da distribuição uniforme das marcações de ouro coloidal nas membranes das plaquetas normais, verificou-se agrupamentos de ouro coloidal nas plaquetas agregedas por trombine, embora não apresentando diferençe quantitative entre estes dois grupos. Assim, a ativação por trombina induziu uma elteração quantitetive e qualitetiva de ligações de WGA nas membranas de plaquetas, sugerindo ume possibilidade das glicoproteínas das membrenas des plaquetes que se ligem à WGA estarem envolvidas com e egregação induzida pele trombine.

9. DIAMENT, A.; CARNEIRO, C.R.M.; RAW,I.; SCHIMIDT, B.J.
Arylsulfatase-A determination in petients with confirmed or suspected metachrometic leukodystrophy.
In: SCHIMIDT, B.J. et al. eds. Current trends in infant screening.
Amsterdam, Elsevier Science Publishers, 1989. p. 415-418.

Abstract: Arylsulfatase — A was determined in leukocytes using methyl-umbeliferyl-sulfate es substrate and silver ions to distinguish between isoenzymes. This methods was used on a groups of 22 patients with confirmed leucodistrophy, 39 suspected cases and 91 patients with other neurological diseases. The method was unsafe to detect heterozygotes but allowed to distinguish the suspected group, containing enzyme deficient and heterozygote ceses, from the normels.

Resumo: Arilsulfatase — A foi determinada em leucócitos usando metil-umbeliferil sulfato como substrato e ions de prata para distinguir isoenzimas. O método foi usado num grupo de 22 pacientes com leucodistrofia, 39 casos suspeitos, e 91 pacientes com outras doenças neurológicas. O método não é seguro para detectar heterozigotos, mas permitiu distinguir o grupo suspeito, contendo pacientes com deficiência enzimática e heterozigotos dos normeis.

10. DORCE, V.A.C. & PALERMO-NETO, J.
Hormônios sexuais femininos e sistemas dopaminérgicos centrais.
Ciência e Cultura, 41(5): 421-426, 1989.

Abstract: Female sexual hormones and dopaminergic brain systems. The relations between dopaminergic systems and female sexual hormones were analysed. Several references were presented suggesting not only that tuberoinfundibular dopaminergic system is related to pituitary hormonal secretion but also that female sexual hormones can modify dopaminergic neurotransmission. The higher incidence of tardy dyskinesias observed in women after menopause was associated to the development of central dopaminergic supersensitivity.

Resumo: Foram analisadas as relações entre sistemas dopaminérgicos centrais e hormônios sexuais femininos. O trabalho discute não apenas as evidências que mostram estar o sistema dopaminérgico túbero-infundibular diretamente ligado a secreções hormonais hipofisárias, como também aquelas que apontam efeitos dos hormônios sexuais femininos na atividade dos sistemas de neurotransmissão dopaminérgica. Associou-se a maior incidência de discinesias tardias, observada em mulheres após a menopausa, ao desenvolvimento e supersensibilidade dopaminérgica central.

11. HISS, H.; SALVADORI, D.M.F.; BEÇAK, W.; RIBEIRO, L.R.
An indirect evaluation of liquid insecticide concentrations in atmospheres for mutagenicity experiments.
Arq. Biol. Tecnol., 32(4):787-791, 1989.

Abstract: A method for the generation of a dichlorvos atmosphere to be used in mutagenicity experiments is proposed, based on a simple device which allows indirect estimation of insecticide concentration. The system can also be applied to other kinds of liquid insecticides, since it is simply based on the weight losses of the flask during vaporization.

Resumo: É proposto um método para a geração de uma atmosfera de diclorvos, a ser utilizada em experimentos mutagênicos baseado em um dispositivo simples, e que permite uma estimativa indireta da concentração do inseticida.
O sistema também pode ser aplicado a outras espécies de inseticidas líquidas, tendo em vista de que o mesmo é simplesmente baseado nas perdas de peso do frasco durante a vaporização.

12. KAMIGUTI, A.S. & CARDOSO, J.L.C.
Haemostatic changes caused by the venoms of South American snakes.
Toxicon, 27(9):955-963, 1989.

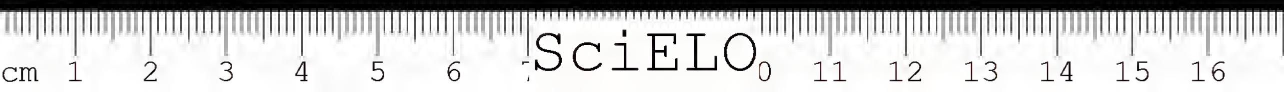
Abstract: Changes in the haemostic mechanism caused by venoms of *Bothrops*, *Crotalus* and Lachesis snakes from Central and South America in human accidents are reviewed. Changes in the blood coagulation mechanism could found depending in the action of the venom on clotting factors.

Resumo: Foi revista a literatura sobre alterações nos mecanismos de hemostasia provocadas pelos venenos das serpentes *Bothrops*, *Crotalus* e *Lachesis* da América Central e do Sul.
Alterações nos mecanismos de coagulação sangüínea podem ser encontradas, dependendo da ação do veneno sobre os fatores da coagulação.

13. LEITE, L.C.C. & AUGUSTO, O.
DNA alterations induced by the carbon-centered radical derived from the oxidation of 2-phenylethylydrazine.
Arch. Biochem. Biophys., 270(2):560-572, 19B9.

Abstract: The possible significance of carbon-centered radicals in hydrazine-induced carcinogenesis is explored by studies of the interaction between the 2-phenylethyl radical and DNA. The radical is efficiently generated during oxidation of phenelzine (2-phenylethyl-hydrazine) promoted by oxyhemoglobin or ferricyanide, as demonstrated by spin-trapping experiments and analysis of the reaction products. In the ferricyanide promoted oxidation, ethylbenzene formation accounts for about 40% of the initial drug concentration, from 5 to 100 mM phenelzine. By contrast, product formation in the presence of oxyhemoglobin depends on the enzyme concentration due to the fact that the prosthetic heme is destroyed during catalytic turnover. Covalent binding of the 2-phenylethyl radical to oxyhemoglobin is demonstrated by experiments with 2- [^{3}H] phenelzine, where tritium incorporation to the protein is inhibited by the spin-trap, α-(4-pyridyl-1-oxide)-*N-tert*-butylnitrone. The 2-phenylethyl radical is also able to alkylate DNA as suggested by electrophoretic studies with plasmid DNA, and proved by experiments with 2- [^{3} H]-phenelzine. The carbon-centered radical has a preference for attacking guanine residues as demonstrated by the use of sequencing techniques with ^{32} P-DNA probes. The results indicate that the 2-phenylethyl radical is an important product of phenelzine oxidation and that this species can directly damage protein and DNA.

Resumo: O papel de radicais de carbono na carcinogenicidade de derivados de hidrazina foi investigado através de estudos da interação entre o radical 2-feniletila e DNA. O radical é eficientemente gerado durante a oxidação de fenelzina (2-feniletilidrazina) promovida por oxiemoglobina ou ferricianeto, como demonstrado por experimentos de captação de spin e análise de produtos de reação. Na oxidação promovida por ferricianeto, a formação de etilbenzeno corresponde a 40% da concentração inicial, entre 5 e 100 mM de fenelzina. Em contraste, a formação de produto na presença de oxiemoglobina depende da concentração da enzima devido ao fato do heme prostético ser destruído durante a catálise. A ligação covalente do radical 2-feniletila à oxiemoglobina é demonstrada através de experimentos com 2-^{3} H-fenelzina, onde a incorporação de trítio é inibi-



da pelo captador de spin, a -(4-piridil-1-óxido)-N-tert-butylnitrona. O radical 2-feniletila também é capaz de alquilar o DNA, como é sugerido por estudos com eletroforese de DNA de plasmídeo, e comprovado por experimentos com 2-^{3} H-fenelzina. Estudos utilizando técnicas de seqüenciamento de sondas de ^{32P}-DNA demonstraram que o radical de carbono tem preferência por ataque a resíduos de guanina. Estes resultados demonstram que o radical 2-feniletila é um produto importante na oxidação da fenelzina e que esta espécie pode danificar diretamente proteína e DNA.

14. LUCCHIARI, M.A.; LONGO, M.A.; PEREIRA, C.A.
Nonfatal demyelinating encephalomyelitis induced by coronavirus (JHM strain) infection in mice.
Brazilian J. Med. Biol. Res., 22:77-80, 1989.

Abstract: C3H mice infected intravenously with the JHM strain of coronavirus showed high incidence of demyelination (44,8%) and low incidence of encephalitis-induced mortality (6,9%). High titers of virus were detectable in the brain and liver of mice only during the first 3 to 12 days of infection (10^3 and 10^4 PFU/g, respectively). Most of the animals recovered from the first phase of disease and some (11,1%) came down with paralysis 6 to 7 weeks after the infection, with no histological changes or virus detectable in their tissues.

Resumo: Camundongos, C3H infectados por via intravenosa com a cepa JHM de coronavirus, mostraram alta incidência de desmielinização (44,8%) e baixa incidência de mortalidade induzida por encefalite. Altos títulos de vírus foram detectados no cérebro e fígado dos camundongos durante os primeiros 3 a 12 dias de infecção (10^3 e 10^4 PFU/g, respectivamente). A maioria dos animais se recuperaram da primeira fase da doença e alguns (11,1%) morreram com paralisia 6 a 7 semanas após a infecção, sem alterações histológicas ou vírus detectável nos seus tecidos.

15. LUCCHIARI, M.A. & PEREIRA, C.A.
A major role of macrophage activation by interferon-gamma during mouse hepatitis virus type 3 infection. I. Genetically dependent resistance.
Immunobiol., 180:12-22, 1989.

Abstract: Resistance of mice to mouse hepatitis virus type 3 (MHV3) infection is genetically determined. Normal adult A/J mice are resistant, and BALB/c mice are susceptible. Higher titers of virus and interferon (IFN) *in vivo* were found in MHV3–infected BALB/c mice compared with A/J mice. *In vitro* activation of macrophages (MΦ) by lipopolysaccharide (LPS) delayed MHV3 replication only in cells that originated from A/J mice, although cell populations from both A/J and BALB/c mice were able to synthesize comparable amounts of IFN-$\alpha\beta$. Using specific antibodies, we have shown that the delayed MHV3 replication in LPS-activated A/J M was due, in part, to IFN-$\alpha\beta$. A/J MΦ were found to be more sensitive to IFN-γ than to IFN-$\alpha\beta$, and BALB/c MΦ did not develop an antiviral state to either IFN. Cultured spleen cells from A/J mice synthesized more IFN-γ than BALB/c spleen cells after specific or non-specific stimulation. The results indicate that IFN-activated MΦ may play a crucial role in the resistance to MHV3 infection. Since IFN-γ is produced in large amounts by A/J spleen cells after specific stimulation with MHV3 and is efficient in activating the A/J MΦ, a T cell-dependent mechanism is likely to be involved.

Resumo: A resistência de camundongos à infecção pelo vírus da hepatite murina tipo 3 (MHV3) é geneticamente determinada. Camundongos A/J adultos normais são resistentes, e BALB/c são susceptíveis. Altos títulos de vírus e interferon (IFN) "in vivo" foram encontrados em camundongos BALB/c infectados com MHV3 quando comparados com camundongos A/J. A ativação "in vitro" de macrófagos com LPS retardou a replicação dos MHV3 somente em células originadas de camundongos A/J, embora células de ambas linhagens de camundongos foram capazes de sintetizar quantidades comparáveis de IFN alfa beta. Usando anticorpos específicos, mostramos que a replicação retardada dos MHV3 em macrófagos A/J.ativados com LPS, era devida em parte ao IFN alfa beta. Macrófagos A/J mostraram-se mais sensíveis ao IFN gama do que ao IFN alfa beta, e macrófagos BALB/c não desenvolveram um estado antiviral para IFN. Culturas de células do baço de camundongos A/J sintetizaram mais IFN gama do que células de camundongos BALB/c após estímulo específico ou não específico. Os resultados indicam que macrófagos ativados por IFN gama podem desempenhar um papel crucial na resistência à infecção por MHV3. Como IFN gama é produzido em grandes quantidades por células do baço de camundongos A/J após estímulo específico como MHV3 e é eficiente na ativação de macrófagos A/J, um mecanismo T-dependente parece estar envolvido.

16. MANDELBAUM, F.R.; SERRANO, S.M.T.; SAKURADA, J.K.; RANGEL, H.A.; ASSAKURA, M.T.
Immunological comparison of hemorrhagic principles present in venoms of the Crotalinae and Viperinae subfamilies.
Toxicon, 27(2):169-177, 1989.

Abstract: Antibodies were raised against hemorrhagic factors HF_1, HF_2 and HF_3 isolated from the venom of *Bothrops jararaca* and $NHF_{a,b}$ from the venom of *Bothrops neuwiedi*. Crude venoms of different species of snakes were assayed with the rabbit antisera specific for the hemorrhagic factors. Results of immunodiffusion, neutralization of hemorrhagic activity and micro-complement fixation indicated that there is an immunological relationship between the venom hemorrhagic components of the *Bothrops* species and those of other species of the Crotalinae subfamily. The factors of *Bothrops* species seem to be structurally similar. The hemorrhagic proteins from the venoms of *Lachesis*, North American *Crotalus*, Asian *Trimeresurus* and *Akistrodon* species show some resemblance of the *Bothrops* factors. The venom hemorrhagic principles from snakes of the Viperinae subfamily (*Bitis* and *Vipera* species) might have few epitopes similar to those of *Bothrops* species as the only relation shown was the partial neutralization by the immune sera.

Resumo: Foram produzidos anticorpos contra os fatores hemorrágicos HF_1, HF_2 e HF_3 isolados do veneno de *Bothrops jararaca* e $NHF_{a,b}$, de veneno de *Bothrops neuwiedi*. Venenos brutos de diferentes espécies de serpentes foram testados com os soros de coelhos específicos para esses fatores hemorrágicos. Resultados de imunodifusão, neutralização de atividade hemorrágica e fixação de microcomplemento indicaram que existe uma relação imunológica entre os componentes hemorrágicos de venenos das espécies *Bothrops* e os de outras espécies da subfamília Crotalinae. Os fatores das espécies *Bothrops* parecem ser estruturalmente similares. As proteínas hemorrágicas dos venenos de *Lachesis* de *Crotalus* norte-americanos de várias espécies de *Trimeresurus* e *Agkistrodon* asiáticos mostram alguma semelhança com os fatores das *Bothrops*. Os princípios hemorrágicos de venenos de serpentes da subfamília Viperinae (espécie *Bitis* e *Vipera* podem ter alguns epitopos similares aos das espécies *Bothrops*, pois a única relação mostrada foi a neutralização parcial pelos soros imunes.

17. MIYAKI, C.; PRAL, M.M.; GALLINA, N.M.F.; RIZZO, E. de
Micoplasma como contaminante de culturas celulares mantidas em laboratórios de instituições particulares e oficiais.
Rev. Saúde Públ., S. Paulo, *23*(1):39-44, 1989.

Resumo: Foi realizado estudo sobre a incidência de contaminação por micoplasma em 29 tipos de linhagens celulares pertencentes a sete laboratórios de instituições particulares, oficiais e de ensino superior. Utilizando o método de cultivo direto e oito passagens seriadas em meios específicos, líquido e sólido, verificou-se que, do total de 106 amostras, 48 apresentaram-se contaminadas por micoplasma (45,28%), o que constitui elevado índice de contaminação. O fato indica que testes periódicos para a determinação da presença de micoplasma nas culturas em utilização é recomendável e que as culturas contaminadas devem ser eliminadas para evitar a disseminação do microrganismo. Outras medidas preventivas devem ser adotadas, como a eliminação da pipetagem bucal, execução de técnicas assépticas mais estritas no manuseio das células, controle dos soros de origem animal, da tripsina e de outros componentes dos meios de cultura utilizados em cultura celular. O estudo mostrou que, ao invés das oito passagens seriadas propostas inicialmente, cinco foram suficientes para a detecção dos micoplasmas, o que representa economia de tempo e de materiais de custo elevado, reduzindo de 848 para 530 o número de passagens e a duração do teste, de oito para cinco semanas.

Abstract: Mycoplasma is one of the most serious contaminants of cell cultures. Its detection is very important in virology, as well as its eradication. The aim of this study was to verify the incidence of mycoplasma in cell lines maintained in seven laboratories of private, government and college institutions of the State of São Paulo, Brazil, for the purposes of research, production of reagents for diagnosis and production of biologicals for human and animal use. Of the 29 cell lines, eight were derived from human tissues and 21 from other animal species (dog, rabbit, mouse, hamster, monkey, pig, chicken and ox). Using the direct method with specific liquid and solid media for detection of mycoplasma, 48 out of the 106 cell samples tested were positive, corresponding to a contamination index of 45.28%. The incidence of contamination among the 35 cell samples of human origin was 51.43% (18 positive). Of the 71 samples originated from other species, 30 were positive (42.25%). The high incidence of contamination found calls for the adoption of measures for the prevention of this hazard: the elimination of mouth pipetting, the use of aseptic techniques and a rigid control of trypsin, serum and other components of cell culture media. The substitution of mycoplasma-free cultures for all contaminated ones and the performance of periodical tests for mycoplasma detection must also be carried out to prevent and avoid the dissemination of these organisms. Data obtained showed that contamination appeared in the 2nd (72.92%), in the 3rd (20.83%) and in the 4th passage (6.25%). By using this technique, five passages are sufficient to detect mycoplasma and allow a safety margin, thus shortening the length of the test, saving reagents and providing satisfactory and reliable results. If a similar study were carried out establishing five as the number of serial passages for each mycoplasma detection test, the original number of passages would be reduced from 848 to 530 and the time spent on the test would be reduced from eight weeks to five.

18. MOTA, I. & UMEKITA, L.F.
The effect of C3 depletion on the clearance of *Trypanosoma cruzi* induced by IgG antibodies.
Immunology Letters, *21*:223-226, 1989.

Abstract: Passive transfer of homologous immune serum or IgG anti *Trypanosoma cruzi* antibodies to normal mice containing circulating *T. cruzi* bloodstream trypomastigotes (Btrys) induces a very fast clearance of the parasites. Previous work from this laboratory has shown that F(ab')2 fragments obtained from IgG anti-*T. cruzi* antibodies retain the ability to induce lysis of the Btrys but are unable to induce clearance of the parasites. This suggests that the clearance is dependent on the Fc region. The removal of the Btrys may then be effected by attachment of the antibodies to the parasites and removal of the opsonized parasites by the mononuclear phagocytic system. Attachment of the opsonized parasites to macrophages may be effected either through the Fc receptor that binds specifically to the heavy chain of IgG or through C3b fragments after cleavage of C3 by C3-convertases. In order to find out the possible role of C3b in this phenomenon the clearance of Btrys was determined in mice depleted of C3 by previous treatment with cobra venom factor. The results of these experiments showed that depletion of C3 completely abolished the immune clearance induced by anti-*T. cruzi* antibodies. It is suggested that C3 is required for the clearance of Btrys from circulation.

Resumo: A transferência passiva de soro imune homólogo contendo anticorpos anti-*T. cruzi* para camundongos normais contendo tripomastigotas sangüíneos circulantes, produz um "clearance" extremamente rápido dos parasitas. A remoção destes pode ser efetuada pela ligação dos anticorpos aos parasitas e sua remoção pelas células do sistema mononuclear fagocítico (SMF). A ligação dos parasitas opsonizados às células do SMF pode ser efetuada através do receptor do Fc, que liga-se especificamente à cadeia pesada da IgG ou através

do fragmento C3b após clivagem do C3 pelas C3 convertases. A fim de verificar o possível papel dos receptores para o C3b neste fenômeno o "clearance" dos tripomastigotas foi determinado em camundongos depletados de C3 por tratamento prévio com o fator do veneno da cobra (COF). Os resultados dos experimentos mostraram que a depleção de C3 abole o "clearance" imune induzido por anticorpos anti-*T. cruzi*.

19. PREZOTO, B.C.; HIRAICHI, E.; ABDALLA, F.M.F.; LAVRAS, A.A.C.; PICARELLI, Z.P.
Effect of the substance(s) released *in vitro* by the interaction of *Bothrops jararaca* (BJ) venom or trypsin and BJ plasma on BJ blood pressure and uterus.
Advan. experim. med. biol., 247:419-424, 1989.

Abstract: Release of a substance(s), hypotensive in BJ and contracting BJ uterus, was elicited by incubating BJ plasma or its globulin fraction with trypsin or a partially purified snake venom kininogenase. Like mammalian kinins, this(ese) substance(s) was (ere) dialysable, thermostabile in acid but not in alkaline pH, inactivated by chymotrypsin and BJ kininases but not by trypsin.
The released substance(s) was (ere) shown to be inactive on rat blood pressure or uterus and weakly active on pigeon oviduct.
This strongly suggests that the released material is different from ornithokinin and from mammalian kinins, indicating that snakes may have developed a specific kallikrein-kinin system.

Resumo: Uma substância que contrai o útero de *Bothrops jararaca* e produz hipotensão nessa serpente foi liberada pela incubação do plasma da serpente ou da fração globulínica desse plasma com tripsina ou uma cininogenase parcialmente purificada de seu veneno. Como as cininas de mamíferos, essa substância foi dialisável, termoestável em pH ácido mas não em pH alcalino, inativada por quimotripsina e cininases de *Bothrops jararaca* mas não por tripsina.
A substância liberada é inativa na pressão arterial ou útero de rato e fracamente ativa no oviduto de pombo. Estes dados sugerem que o material liberado é diferente de ornitocinina e das cininas de mamíferos, indicando que as serpentes podem ter desenvolvido um sistema calicreína-cininas específico.

20. RIBEIRO, L.A. & JORGE, M.T.
Alteração do tempo de coagulação sangüínea em pacientes picados por serpentes *Bothrops jararaca* adulta e filhote.
Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. S. Paulo, 44(4):143-145, 1989.

Resumo: Trezentos e quarenta e oito casos de acidentes por *Bothrops jararaca* adulta (grupo A) atendidos no Hospital Vital Brasil, no período de 1975 a 1984, foram comparados com 623 casos de acidentes pela mesma serpente porém filhote, atendidos no mesmo local e período (grupo B). Não houve diferença estatisticamente significante entre os dois grupos no que se refere à faixa etária dos pacientes ou ao tempo decorrido entre o acidente e o atendimento. O grupo B, entretanto, apresentou incoagulabilidade sangüínea mais freqüentemente do que o grupo A. Conclui se que os filhotes de *Bothrops jararaca* são mais capazes do que as adultas de causar incoagulabilidade sangüínea em suas vítimas humanas.

Abstract: Three hundred and forty eight cases of bites by adult *Bothrops jararaca* (group A) were admitted to the Hospital Vital Brazil between 1975 and 1984. These cases were compared to 623 cases of bites by young snakes of the same species (group B) during the same period and at the same hospital.
There was no difference between groups regarding age or time between bite and admittance to the hospital. However in group B blood incoagulability was more frequent when compared to group A.
We conclude that bites caused by young *Bothrops jararaca* are more likely to cause blood incoagulability in humans than bites caused by adult *Bothrops jararaca*.

21. RIZZO, E. de; TENÓRIO, E.C.N.; MENDES, I.F.; FANG, F.L.W.; PRAL, M.M.; TAKATA, C.S.; MIYAKI, C.; GALLINA, N.M.F.; TUCHIYA, H.N.; AKIMURA, O.K.
Sorbitol-gelatin and glutamic acid-lactose solutions for stabilization of reference preparations of measles virus.
Bull. PAHO, 23(3):299-305, 1989.

Abstract: The work reported here sought to assess the protection afforded, by two stabilizing solutions (sorbitol-gelatin and glutamic acid-lactose) in preserving the potency of freeze-dried Schwarz strain measles virus during storage with a view to the production of reference preparations and working lots of virus suspensions. Stabilized virus suspensions and control suspensions were stored at - 70°C or were freeze-dried and stored at - 20°C, and their potency was determined over a storage period of 21 months. It was found that the sorbitol-gelatin imparted more satisfactory stability (r = + 0.18) to the freeze-dried virus suspensions than did the glutamic acid-lactose. The results also indicate that sorbitol-gelatin, used under the conditions of this study, is an effective stabilizer in the preparation of freeze-dried suspensions of Schwarz strain measles virus employed as reference preparation working lots.

Resumo: Os Autores realizaram o estudo descrito neste artigo com o objetivo de avaliar o efeito protetor proporcionado por duas soluções estabilizadoras ao vírus do sarampo, cepa Schwarz-sorbitol-gelatina e ácido glutâmico-lactose - submetido à liofilização, com vistas à produção de preparações referência lotes trabalho. O efeito da estocagem a -20°C ou -70°C sobre a potência de suspensões virais estabilizadas, liofilizadas ou não, foi avaliado durante 21 meses tendo as amostras sido tituladas quanto à potência, em paralelo com um vírus padrão obtido de laboratório credenciado pela Organização Mundial da Saúde.
Depois de comentar e comparar as várias feses do estudo, tipos de células empregadas, meios estabilizadores, como foram estocadas as suspensões, a titulação dos vírus estabilizados etc., os Autores concluem ter ficado

demonstrado que a solução de sorbitol-gelatina proporcionou estabilidade mais satisfatória (r = + 0.18) às suspensões virais que foram liofilizadas e mantidas a -20°C, sendo, portanto, considerada como estabilizador eficiente na preparação de vírus referência do sarampo lotes trabalho, liofilizados.

22. RUIZ, I.R.G. & BRISON, O.
Methylation of ribosomal cistrons in diploid and tetraploid *Odontophrynus americanus* (Amphibia, Anura).
Chromosoma, *98*:86-92, 1989.

Abstract: Odontophrynus americanus (Amphibia, Anura), genomic DNA from diploid and tetraploid specimens was treated with restriction enzymes sensitive to cytosine and adenine methylation (5 meC and 6 meA). In both diploids, and tetraploids a high proportion of the total DNA was not cleaved by 5 meC-sensitive enzymes as observed on agarose gels stained with ethidium bromide. The DNAs were transferred to nitrocellulose filters and hybridized with cloned fragments containing sequences of *Xenopus laevis* 28S and 18S ribosomal DNA (rDNA). A high level of menthylation of the ribosomal repeat units was revealed by 5 meC — sensitive enzymes in blood, liver, kidney and testis tissues. Adenine was methylated to a lesser degree and similarly in the rDNA from both germinative and somatic tissues. Comparison of the results obtained with DNA of diploids and tetraploids showed that methylation of ribosomal genes was increased in tetraploid genomes of adult frogs, but exact quantitative determinations could not be performed by this methodology. Cloning of the 28S region of the rDNA repeat unit was performed in the λ gtWES λ C vector. Restriction patterns obtained with methylation-sensitive enzymes using diploid and tetraploid derived clones confirmed the high level of methylation of the corresponding region of the ribosomal repeat unit in genomic DNAs. The implications of these results in the regulation of expression of the ribosomal genes in diploids and tetraploids are discussed.

Resumo: Clivou-se o DNA genômico de *O. americanus* 2n e 4n (Amphibia, Anura) com enzimas de restrição sensíveis à metilação de citosina e adenina (5meC e 6meA). Uma alta proporção de DNA total não foi clivado pelas enzimas sensíveis à 5meC, tanto em diplóides como tetraplóides, quando observamos os géis corados com brometo de etídio. Os DNAs foram transferidos para filtros de nitrocelulose e hibridizados com fragmentos clonados contendo seqüências de DNA ribossômicos (rDNA) 28S e 18S. Observou-se um alto grau de metilação das unidades de repetição ribossômicas através das enzimas sensíveis à metilação de citosina em tecidos como sangue, fígado, rim e testículos. A metilação de adenina no rDNA foi menor, tanto em tecidos somáticos como germinativo. A comparação dos resultados obtidos com DNA de diplóides e tetraplóides evidenciou um aumento da metilação dos genes ribossômicos nos sapos tetraplóides adultos, mas determinações quantitativas exatas não foram possíveis por esta metodologia. A região 28S da unidade repetida do rDNA foi clonada no vetor gtWES C. Os padrões de restrição obtidos com enzimas sensíveis à metilação usando clones com insertos de origem diplóide e tetraplóide confirmaram o alto grau de metilação da região correspondente na unidade de repetição ribossômica dos DNAs genômicos. Discutem-se as implicações destes resultados na regulação da expressão dos genes ribossômicos em diplóides e tetraplóides.

23. SALVADORI, D.M.F.; RIBEIRO, L.R.; HISS,H.; BEÇAK, W.
Activity of four organophosphorus insecticides in the mouse sperm morphology test.
Rev. Soc. bras. Toxicol., 2(2): 21-28, 1989.

Abstract: The effect of four organophosphorus insecticides (malathion, diazinon, dichlorvos and trichlorfon) on mouse sperm head morphology was studied. The animals were treated dermally (malathion), intraperitoneally (diazinon, trichlorfon and dichlorvos) and by inhalation (dichlorvos) during 5 consecutive days.
A statistically significant increase in the frequency of sperm abnormalities was observed in mice dermally exposed to the highest tested dose of malathion (1000 mg/kg), in mice exposed via inhalation to dichlorvos (0.24 and 0.32 mg/l) and in mice intraperitoneally exposed to the highest dose of diazinon (100 mg/kg). However, no statistically significant increase was observed in mice intraperitoneally exposed to dichlorvos and trichlorfon.

Resumo: O efeito de 4 inseticidas organofosforados (malation, diazinon, diclorvos e triclorfon) foi avaliado em camundongos, através do teste de morfologia de espermatozóide. Os animais foram expostos aos inseticidas, por via intraperitoneal (diazinon, diclorvos e triclorfon), via dérmica (malation) e por inalação (diclorvos) durante 5 dias consecutivos.
Um aumento significativo na freqüência de espermatozóides anômalos foi observado quando os animais foram expostos ao malation (1000 mg/kg) ao diazinon (100 mg/kg) e ao diclorvos, por inalação (0,24 e 0,32 mg/l). Contudo, nenhum aumento significativo foi observado com relação ao triclorfon e ao diclorvos quando os animais foram expostos por via intraperitoneal.

24. SANDOVAL, M.R.L. & PALERMO-NETO,J.
Behavioral aspects of GABAergic — dopaminergie interactions in the central nervous system.
European J. Pharmacol., 167: 117-125, 1989.

Abstract: GABAergic-dopaminergic relationships in rats were analysed quantitatively by means of behavioral studies. Acute and long-term haloparidol administration induced significant leftward displacement of the control dose-response curves for picrotoxin but not those for strychnine or 3 mercaptopropionic acid (3-MPA). Apomorphine given acutely increased the sensitivity of the animal to strychmine but not to picrotoxin or 3-MPA. In animals that presented convulsion a stereotyped gnawing and/or licking behavior was observed immediately after the ictus activity as a consequence of the combined acute administration of haloperidol and picrotoxin. Long-term haloperidol treatment increased the gnawing and/or licking behavior immediately before and/or after the ictus activity induced by picrotoxin (1 and 72 h after haloperidol withdrawal) or 3-MPA (72 h after with-

drawal). A possible effect of the drugs employed on the DA-nigroamygdaloid and/or the GABA-striatonigral fiber systems is discussed.

Resumo: Interrelações GABAergica-dopaminérgica, em ratos, foram analisadas quantitativamente por meio de estudos comportamentais. Administratação aguda e crônica de haloperidol induziram desvios para a esquerda da curva dose-resposta para picrotoxina mas não para estriquinina ou ácido 3-mercaptopropiônico (3-MPA). Administração aguda de apomorfina aumentou a sensibilidade do animal à estriquinina mas não à picrotoxina ou 3-MPA. Em animais que apresentaram convulsão, foi observado comportamento de morder e/ou lamber, imediatamente após o *ictus*, como conseqüência da administração aguda da combinação haloperidol e picrotoxina. Tratamento crônico com haloperidol aumentou o comportamento de morder e/ou lamber imediatamente antes e/ou após o *ictus* induzido por picrotoxina (1 e 72 horas após a retirada do haloperidol) ou 3-MPA (72 horas após a retirada). É discutido um possível efeito das drogas empregadas nas fibras dos sistemas DA--nigroamigdaloide e/ou GABA-estriatonigral:

25. SANTOS, M.C. dos; YAMAGUCHI, I.K.; CARICATTI, C.P.; HIGASHI, H. G.; DIAS da SILVA, W.
Immunization of equines with phospholipase A_2 protects against the lethal effects of *Crotalus durissus terrificus venom.*
Brazilian J. Med. Biol. Res., 22: 509-512, 1989.

Abstract: Equines (2 horses and 2 donkeys) immunized with whole *Crotalus durissus terrificus* venom or its phospholipase A2 component either presented an increased survival time determined 3 days after challenge or were totally resistant to a challenging lethal dose of 200 mg crude venom 270 days after the initial immunization or 90 days after the last booster injection. The resistance was demonstrable on the basis of a good correlation with antibody titers determined by the ELISA method but not with the flocculation and neutralization assays. Since phospholipase A2 is essentially nontoxic, it can be used as a substitute for whole venom for the production of commercial antisera and as an immunizing agent in prophylactic programs.

Resumo: Os equinos (2 cavalos e 2 muares) imunizados com o veneno de *C.d. terrificus* ou seu componente fosfolipase A2, ambos apresentaram um aumento do tempo de sobrevida determinado 3 dias depois do desafio ou foram totalmente resistentes para uma dose desafio letal de 200 gramas de veneno bruto 270 dias após a imunização inicial ou 90 dias após a última inoculação de reforço. A resistência foi demonstrada com base numa boa correlação com título de anticorpos determinado pelo método de ELISA mas não pelo método de floculação e neutralização.
Desde de que fosfolipase A2 é essencialmente atóxica, pode ser usada como um substituto de o veneno total para produção de antissoro comercial e como um agente imunizante no programa profilático.

26. SANTOS, R.C.S. dos; OHTSUBO, I.; MOURA, J. W.; CASTRO, N.H.C. de; BARNABE, V.H.; VISINTIN, J. A.; PERES, C. de A.; BEÇAK, W.
Prospective study of the effects of the 1/29 Robertsonian translocation upon the fertility of marchigiana males.
Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 26(1): 111-120, 1989.

Abstract: The effects of the 1/29 translocation on fertility of Marchigiana males were investigated on a prospective study. We have compared normal Nelore females artificially inseminated by an heterozygote Marchigiana sire (experimental group) with those resulting from a normal male insemination (control group). We could observe: 1. higher mean number of A.I./conception in the experimental group; 2. significant reduction of pregnant females at first service, in the experimental group; 3. no difference in the period between the A.I.(s) or in abortion rates, in both groups; 4. F1 obtained from experimental group were analysed and the 1/29 distribution does nor differ from 1:1. The reduction of fertility may be due to zygotic loss and/or production of aneuploid gametes. We have performed a meiotic and spermatic study in two heterozygote 1/29 translocated males resulting from Marchigiana x Nelore crossbreed. We found alterations in the spermatic characteristics of the heterozygote, mainly reduction of sperm concentration/mm3. Meiotic analysis of a translocated male shows no association between any autosome and the sex vesicle.

Resumo: O presente estudo refere-se aos efeitos da translocação 1/29 sobre a fertilidade de bovinos machos Marchigiana, de forma prospectiva. Comparamos fêmeas Nelore normais, inseminadas artificialmente com sêmen de touro Marchigiana heterozigoto (grupo experimental) com aqueles resultantes de inseminação com sêmen de touro normal (grupo controle). Os resultados revelaram: 1º nº médio significantemente aumentado de Inseminações Artificiais/concepção, no grupo experimental; 2. redução significante de fêmeas prenhes ao 1º serviço, no grupo experimental; 3. comparando-se os grupos experimental e controle, não se verificou diferença nas taxas de aborto ou no período entre inseminações; 4. a distribuição de translocados 1/29 não diferiu da proporção 1:1, dentro da F1 obtida do grupo experimental. A redução de fertilidade pode ser devida a perda zigótica e/ou produção de gametas aneuplóides. Desenvolvemos estudos meióticos e espermáticos em 2 touros heterozigotos 1/29, resultantes do cruzamento Nelore x Marchigiana. Pudemos verificar alterações nas características espermáticas do heterozigoto, principalmente redução da concentração de espermatozóides/mm3. A análise meiótica de um macho F1 translocado mostrou não haver associação entre autossomos e a vesícula sexual.

27. SCHMIDT, B.J.; TOPZEWSKI, A.; PINTO JR., W.; RAW, I.; CARNEIRO, C.R.M.
Tay-sacks disease: comments on a case after skin fibroblast transplantation.
In: — Current trends in infant screening. Amsterdam, Elsevier Science Publishers, 1989. p. 409-413.

Abstract: A 18 month infant with Tay-Sachs disease was treated by normal fibroblast transplatation. There was an increase in hexosaminidase A and B activities in serum and leukocytes, with clinical improvement.

Resumo: Uma criança de 18 meses com doença de Tay-Sachs foi transplantada com fibroblastos normais. Este tratamento resultou num aumento de hexosaminidase A e B no sero e leucócitos, com uma melhoria clínica.

28. SILVA, A.M.da; GOMES, S.L.; MAIA, J.C.C.; JULIANI, M.H.
Phosphorylation of ribosomal protein S6 is dependent on cyclic AMP in *Dictyostelium discoideum.*
Second Messengers Phosphoproteins, 12(5/6):271-280, 1988/89.

Abstract: Extracts of aggregation-competent cells of *Dictyostelium discoideum* have an S6 protein kinase activity which is inhibited in *the presence of the* inhibitor *of the cAMP-dependente protein kinase. The phosphorylation of S6 is rapide, and decays rapidly. The S6 kinase activity is detectable in the 150000g supernatant only in the presence of phosphatase inhibitors known for preserving the S6 kinase in other systems, indicating that the activated form of the enzyme is phosphorylated by the cAMP-dependent protein kinase. S6 kinase elutes as a peak from DEAE-Sephacel at 100 mM NaCl, with an activity that is cAMP-dependent.*

Resumo: Extratos de células de *Dictyostelium discoideum* competentes para a agregação possuem uma atividade de proteína quinase de S6, a qual é inibida na presença do inibidor da proteína quinase dependente de cAMP. A fosforilação de S6 é rápida e decai também rapidamente. A atividade de S6-quinase é detectável no sobrenadante após 150.000 xg apenas na presença de inibidores de fosfatase conhecidos por preservar a S6-quinase em outros sistemas, indicando que a forma ativada da enzima é fosforilada por uma quinase dependente de cAMP. A S6-quinase é eluída de uma DEAE-Sephacel com 100mM de NaCl com uma atividade que é dependente de cAMP.

29. SILVA, A.M. da & KLEIN, C.
Characterization of a glycosyl-phosphatidylinositol degrading activity in *Dictyostelium discoideu* membranes.
Exp. Cell Res., 185:464-472, 1989.

Abstract: Antigen 117 is a glycolipid-anchored cell surface protein implicated in cell-cell cohesion of *Dictyostelium discoideum* amoebae. Previous studies have demonstrated that during cell aggregation some of the protein is released from the cell surface. Here we report the characterization of the enzymatic activity involved in the 117 antigen release. The data indicate that the releasing enzyme is a phosphatidylinositol phospholipase C. The data also indicate that structural features of glycolipid anchors are conserved in a variety of organisms.

Resumo: O antígeno 117 é uma proteína ancorada à superfície celular através de um glicolipidio e que está implicada na coesão celular da ameba *Dictyostelium discoideum.* Estudos prévios demonstraram que durante a agregação celular parte da proteína é liberada da superfície celular. Neste trabalho relatamos a caracterização da atividade enzimática envolvida na liberação do antígeno 117. Os resultados indicam que a enzima liberadora é uma fosfolipase C específica para glicosil-fosfatidil-inositol. Os resultados também indicam que as características estruturais de âncoras glicolipidicas são conservadas em uma variedade de organismos.

30. SILVA, A.M.M. da; BRÖDSKYN, C.I.; TAKEHARA, H.A.; MOTA, I.
Differences in the antigenic profile of bloodstream and cell culture derived trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi.*
Rev.Inst.Med.trop.São Paulo, 31(3):146-150, 19B9.

Abstract: A comparative study of the antigenic profile of bloodstream and cell culture derived trypomastigotes showed many differences in their components. Using mouse anti-*T. cruzi* antibodies the differences were located-mostly in the 120 kDa band, whereas using chagasic patient sera the differences were located in the 85 and 52 kDa bands. These findingsmight explain known physiological differences between trypomatigotes obtained from cell culture and from infected blood. A brief report of this work has already been published[9].

Resumo: O estudo comparativo do perfil antigênico de tripomastigotas sangüícolas e tripomatigotas obtidos por cultura celular do *Trypanosoma cruzi* revelou que estas formas apresentam diferenças em alguns de seus componentes. Utilizando-se anticorpos provenientes da infecção murina, as diferenças foram detectadas na região de 120 kDa enquanto soros de pacientes chagásicos detectaram diferenças nas regiões de 85 e 52 kDa. Estas observações podem oferecer uma explicação a diferenças fisiológicas que ocorrem entre os tripomastigotas sangüícolas e os obtidos de cultura celular.

31. SILVA, A.M.M. da & TANIZAKI, M.M.
Antigenic relationship among antihemorrhagic factors from snake and opossum plasmas.
*Brasilian J.Med.Biol.Res., 22:*717-719, 1989.

Abstract: Immunological relationships among antihemorrhagic factors (AHF) present in the plasma of different snakes and a mammal (opossum) were studied. Antibodies were prepared against purified *Bothrops jararaca* and *Didelphis marsupialis aurita* (opossum) AHF. The antigen-antibody reaction was determined by directy ELISA and by the competition of homologous antigen-antibody reaction with a heterologous competitor antigens. Plasmas from several snakes and from opossum were used as antigens. Anti-AHF *(B. jararaca)* reacted only with snake plasmas. Antibody against opossum AHF was detectable only when the homologous antigen was used. Differences in the reactivity of snake plasmas with antibodies against *B. jararaca* were demonstrable only

when a competition assay was used *B. alternatus* showed a reaction pattern similar to that of *B. jararaca* while *Crotalus durissus terrificus and the nonvenomous snake, Wanglerophis merremii*, presented reduced reactivity.

Resumo: Reatividade cruzada entre fatores anti-hemorrágicos (AHF) do plasma de diferentes serpentes e de um mamífero, o gambá *D. marsupialis aurita* foi estudado. Os anticorpos foram preparados contra AHF purificados do plasma da *B. jararaca* e do gambá. A reação antígeno-anticorpo foi determinada por ELISA direto e por competição da reação antígeno-anticorpo homólogo com um antígeno heterólogo competidor. Plasma de diversas serpentes e do gambá foram usados como antígeno. O anti AHF de *B. jararaca* reagiu somente com antígenos de serpentes e o anticorpo contra AHF do gambá foi detectável somente contra antígeno homólogo. Diferença na reatividade de antígenos de diferentes serpentes foi demonstrado por ensaio de competição: *B. anternatus* mostrou um padrão de reação semelhante à da *B. jararaca* enquanto *C. durissus terrificus* e *Wanglerophis merremii* apresentaram baixa reatividade cruzada.

32. Takehara, H.A.; Silva, A.M.M. da; Brodskyn, C.I.; Mota, I.
A comparative study of anti-*Trypanosoma cruzi* serum obtained in acute and chronic phase of infection in mice.
Immunology Letters, 23: 81-86, 1989-1990.

Abstract: The IgG antibody content, specificity, lytic activity, clearance capacity and protective ability of mouse anti-*Trypanosoma cruzi* serum was determined during the course of infection. The IgG antibody content increased during the course of infection, reaching its highest level in the serum collected in the chronic phase of the infection. The *T. cruzi* antigens recognized by antibodies using the protein transfer technique also increased with time of infection. Antibodies present in day 22 post-infection (p.i.) serum were already able to recognize all the antigens detected by antibodies present in serum from the chronic phase. The lytic and clearance ability were not detected on day 7 p.i., but appeared on day 14 p.i. and reached their highest level on day 45 p.i. The protective ability was present in serum of the chronic phase, but was absent from the acute serum. The IgG antibody content of the acute serum was four times less than that of the chronic serum. When the IgG antibodoy concentration of the acute serum was equalized to that of the crhonic serum, the acute serum was as able to protect the infected animals as the chronic serum. It is suggested that the disagreement between the protective ability of anti-*T. cruzi* antisera collected in the acute or in the chronic phase of the infection is due to a quantitative rather than a qualitative difference.

Resumo: Estudou-se o conteúdo, a especificidade, a atividade lítica, a capacidade de induzir "clearance" e a atividade protetora de soro anti-*T. cruzi* obtido durante o curso da infecção. Os anticorpos IgG aumentaram durante o curso da infecção atingindo seu máximo no soro coletado na fase crônica da infecção. Os antígenos do *T. cruzi* reconhecidos por anticorpos usando a técnica de transferência de proteínas também aumentaram no curso da infecção. Os anticorpos presentes no 22º dia da infecção já eram capazes de reconhecer todos os antígenos reconhecíveis pelos anticorpos da fase crônica. As atividades lítica e de clearance somente foram detetadas no 14º dia da infecção atingindo o máximo no dia 45º dia. A atividade protetora estava presente no soro crônico mas ausente no soro agudo. O conteúdo de anticorpos IgG no soro agudo era quatro vezes menor do que no soro crônico. Ouando a concentração dos anticorpos IgG do soro agudo foi igualada àquela do soro crônico, ele tornou-se igualmente eficiente para proteger contra a infecção. Foi concluído que a disparidade no poder protetor do soro crônico e agudo é devido a uma diferença quantitativa e não qualitativa.

33. TANIZAKI, M.M.; ZINGALI, R.B.; KAWAZAKI, H.; IMAJOH, S.; YAMAZAKI, S.; SUZUKI, K.
Purification and some characteristics of a zinc metalloprotease from the venom of *Bothrops jararaca* (jararaca).
Toxicon, 27 (7): 747-755, 1989.

Abstract: A metalloprotease from *Bothrops jararaca* venom (J protease) was purified by DEAE - Sephacel, CM-cellulose, Sephacryl S-200 and Sephadex G-75 chromatograph. The proteolytic activity was inactivated by EDTA, o-phenanthroline and DTNB. Phosphoramidon and cysteine protease inhibitors (leupeptin, E 64 and its derivatives) were inactive on this enzyme. J protease was activated by calcium ahd the metal content analysis showed the presence of one mole each of tightly bond zinc and calcium per mole of this J protease. The amino acid composition, N-terminal amino acid sequence (29 residues) and the cleavage sites on the oxidized insulin B chain and angiotensein I were determined.

Resumo: J protease, uma metaloprotease do veneno da *Bothrops jararaca* foi purificada por: DEAE Sephacel, CM-celulose, Sephacryl S-200 e Sephadex G-75. A atividade proteolítica da enzima foi nativada por EDTA, o--fenantrolina e DTNB. Phosphoramidon e inibidores de cisteina proteases (leu-peptin, E 64 e derivados) não inativaram a enzima. J protease foi ativada por Ca^{2+} e a análise do conteúdo de metal mostrou a presença de 1 mol de Zn^{2+} e 1 mol de Ca^{2+} por mol fortemente ligados à enzima. A composição de aminoácidos N-terminal e a seqüência (29 resíduos) e os sítios de clivagem da cadeia B da insulina e angiotensina I foram determinados.

34. TAVARES DE LIMA, W.; TEIXEIRA, C.F.P.; SIROIS, P.; JANCAR, S.
Involvement of eicosanoids and paf in immune-complex alveolitis.
Brazilian J. Med. Biol. Res., 22: 745-748, 1989.

Abstract: An immune-complex-mediated hypersensitivity reaction induced in the rat lung was followed by release of the eicosanoids thromboxane, prostaglandin E_2 and leukotriene B_4 into the bronchoalveolar space. Concomitantly, there was a decrease in the number of circulating platelets. The thrombocytopenia was inhibited by a cyclo-oxygenase inhibitor (indomethacin), a platelet activating factor (PAF) antagonist (BN-52021) and an inhibitor of thromboxane (econazole), but was not affected by a lipoxygenase inhibitor (NDGA). These results suggest the involvement of eicosanoids and PAF in the immune complex hypersensitivy reaction in the rat lung and indicate the occurrence of interactions between PAF and thromboxane.

Resumo: A reação de hipersensibilidade mediada por imune-complexo, induzida em pulmão de rato, foi acompanhada pela liberação dos eicosanóides tromboxana, prostaglandina E_2 e leucotrieno B_4 no espaço broncoalveolar. Concomitantemente ocorreu decréscimo do número de plaquetas circulantes. Essa trombocitopenia foi inibida por um inibidor da cicloxigenase (indometacina), um antagonista do fator ativador de plaquetas (PAF), o BN 52021 é um inibidor de trombosana (econazol), mas não foi afetada por inibidor de lipoxigenase (NDGA). Esses resultados sugerem o envolvimento de eicosanóides e PAF na reação de hipersensibilidade por imune-complexo induzida em pulmão de rato, e indicam a ocorrência de interações entre o PAF e tromboxana.

35. TENÓRIO, E.C.N.; FANG, F.L.W.; AKIMURA, O.K.; YANO, A.F.B.; RIZZO, E. de; STRUFALDI, B.; HIRATA, M.; ABDALLA, D.S.P.; ISHIZUKA, M.M.
Caracterização bioquímica de soros de bezerros utilizados na manutenção de culturas celulares usadas em virologia.
Rev. Saúde públ. S. Paulo, 23(2): 162-9, 1989.

Resumo: Oito lotes de soros de bezerros com idade maior ou menor de seis meses, usados para suplementar meios de cultivo de linhagens de células de uso difundido em virologia, foram testados quanto à sua capacidade promotora de crescimento (CPC) e classificados como bons promotores ou promotores pobres. Foram pesquisados parâmetros relacionados com macronutrientes para estabelecer o perfil bioquímico daqueles lotes. Os resultados obtidos podem ser considerados valores normais para animais aparentemente sadios. As variações que ocorreram para um mesmo parâmetro bioquímico, entre os resultados da pesquisa e os de alguns estudos existentes na literatura, podem ser atribuídas à metodologia utilizada, à raça e idade dos animais, ou mesmo à própria dieta regional. A análise estatística, realizada pela aplicação do teste "t" de Student aos valores das médias e dos desvios-padrão, demonstrou que, com relação às frações séricas, não ocorreram diferenças significantes entre soros de CPC celular boa ou pobre, considerando-se $t_c = 2{,}45$, enquanto que para soros animais maiores ou menores de seis meses, apenas os resultados relativos às frações alfa e beta (t = 2,6B e 2,61, respectivamente) apresentaram significância, sendo superiores ao t crítico. Ficou evidenciado que a avaliação do conjunto de parâmetros bioquímicos pesquisados não permite diferenciar soros pertencentes aos dois grupos de animais, isto é, identificar soros de boa ou de pobre CPC, ou soros de bezerros maiores ou menores de seis meses de idade.

Abstract: Eight lots of the calf sera employed to suplement culture media for the cultivation of animal cells, of widespread use in virology obtained from calves above and below six months of age were rated as good or as poor celi growth promoters according to their growth promoting capacity (GPC). Parameters related to macronutrients contained in these serum lots were then evaluated with the purpose of establishing their biochemical profiles. The results obtained can be considered as normal values for apparently healthy animal donors. Fluctuations found between the data of this investigation and those mentioned in the literature for certain biochemical parameters are probably due to the methodology employed, the breed and age of the animals, or even to regional diet. Student's "t" test was applied for the statistical analysis of the results and demonstrated that, as far as serum fractions were concerned, no significant differences occurred between sera rated as good and poor cell growth promoters, taking $t_c = 2.45$. For calf sera from animals above and below six months of age, two tests relating to alfa and beta fractions were significant (t = 2.68 and: 2.61 respectively). It was demonstrated that the evaluation of the biochemical parameters mentioned "per se" neither leads to the identification of calf sera presenting good or por GPC, nor of sera harvested from calves younger or olden than six months.

36. TORRES, D.M.A.G.V.; OLIVEIRA, M.I. de; FUZIHARA, T.O.; DIAS, R.M.D.S.; MANGINI, A.C.S.; ANTUNES, J.L.F.; CORRÊA, F.M.A.
Correlação entre giardíase e grupo sangüíneo (Sistema ABO) no Município de São Caetano do Sul, SP.
Rev. Inst. Adolfo Lutz, 49(1):69-73, 1989.

Resumo: Foram analisadas amostras de fezes e sangue de 5B0 escolares do Municínio de São Caetano do Sul, São Paulo, com vistas ao estudo da freqüência de giardíase naquele grupo populacional e sua correlação com o Sistema ABO. Foi testada, através de metodologia estatística, a hipótese aventada pela literatura especializada, segundo a qual a giardíase apresentaria incidência mais elevada entre os indivíduos do grupo sangüíneo A. Foram utilizados como grupos-controle o conjunto de escolares incluídos na investigação e a população das cidades de São Paulo e Santo André. Ao exame parasitológico de fezes, verificou-se que 102 (17,59%) escolares estavam parasitados por *Giardia lamblia*; 166 (2B,62%) apresentavam outras enteroparasitoses, e 312 (53,79%) não manifestaram quaisquer infecções parasitárias. A distribuição por grupo sangüíneo dos escolares com giardíase não variou significativamente ($p > 0{,}05$) em relação à mesma distribuição dos grupos populacionais selecionados para controle. Tais resultados diferem daqueles divulgados por outras comunicações científicas, e indicam a necessidade de novos e mais extensos levantamentos populacionais, bem como estudos imunológicos, que confirmem ou descartem definitivamente a hipótese em questão.

Abstract: Blood and stool samples from 5B0 schoolchildren living in São Caetano do Sul, São Paulo State, Brazil, were examined to test the hypothetical correlation between the prevalence of giardiasis and populational distribution by blood group (ABO System). The stool examination showed that 102 (17.59%) students were infected by *Giardia lamblia*, 166 (28.62%) presented other enteroparasitosis and 312 (53.79%) did not present any parasitic infection. The distribution by blood group of the students with giardiasis did not vary significantly ($p < 0{,}05$) in relation to the same distribution of others populational groups selected as standard, by means of control: the complex whole of students included in this investigation and the population of São Paulo and Santo André cities. Such results differ from those established by others scientifical comunications, and show the necessity of new and more extensive populational inquiries that should definitely confirm or reject the hypothesis in question.

37. UMEKITA, L.F. & MOTA, I.
In-vitro lysis of sensitized *Trypanosoma cruzi* by platelets: role of C3b receptors.
Parasite Immunology, 11:561-566, 1989.

Abstract: Incubation of *Trypanosoma cruzi* bloodstream trypomastigotes (Btrys) with C5-deficient blood in the presence of anti-*T. cruzi* immune mouse serum (IMS) or its IgG fraction resulted in an immediate formation of small clumps in which one could easily see platelets adhered to the parasites. After 4 h of incubation most of the clumps had disappeared and the number of the parasites was considerably reduced. Twenty-four hours later there were only a few remaining parasites. This same sequence of events was also observed when the parasites were incubated with isolated platelets in presence of IMS or its IgG fraction. When the parasites were incubated with plasma in the presence of IMS or its IgG fraction but in the absence of platelets there was strong agglutination of the parasites but no reduction in their number. Incubation of the parasites with platelets and IMS or its IgG fraction in C3-depleted plasma prevented adherence of the platelets to the parasites and their subsequent lysis. It is concluded that platelets are able to induce in-vitro lysis of the Btrys and that this phenomenon is dependent on the platelet' receptor for C3b.

Resumo: Incubação dos tripomastigotas sangüíneos do *T. cruzi* (Btrys) com sangue deficiente em C5 na presença de anticorpos IgG anti-T. *cruzi* resulta na imediata formação de grumos nos quais se pode ver facilmente plaquetas aderidas nos parasitas. Após 4 horas de incubação a maioria do grumos tinham desaparecido e o número dos parasitas estava consideravelmente reduzido. Vinte e quatro horas depois restavam apenas poucos parasitas. Esta mesma seqüência de eventos foi também observada quando os parasitas eram incubados com plaquetas isoladas na presença de anticorpos IgG anti-*T. cruzi*. Quando os parasitas eram incubados com plasma na presença de anticorpos mas na ausência de plaquetas ocorreu aglutinação dos parasitas porém sem redução no seu número. Incubação dos parasitas com plaquetas e anticorpos em plasma depletado de C3 impediu a aderência das plaquetas nos parasitas e sua lise. Sugere-se que as plaquetas são capazes de induzir lise dos parasitas em presença de anticorpos e que esse fenômeno depende do C3.

3B. UMEKITA, L. F. & MOTA, I.
Role of the mononuclear phagocytic system in the immune and nonspecific clearance of *Trypanosoma cruzi* bloodstream trypomastigotes.
*Brazilian J. Med. Biol. Res., 22:*14B9-1495, 19B9.

Abstract: 1. The removal of *T. cruzi* bloodstream trypomastigotes (BTRYS) from the circulation is mediated mostly by the mononuclear phagocytic system (MPS). In the present study we investigated the nonspecific and the immune clearance of BTRYS in groups of 4 mice whose MPS activity was either enhanced by BCG treatment or depressed by silica treatment.
2. Treatment with BCG resulted in a significant increase in the nonspecific clearance of both carbon particles (100% after 6 min) and BTRYS (60% after 5 min) 2B days after BCG treatment but there was no change in the immune clearance of the parasites.
3. Pretreatment of the animals with silica induced a significant reduction of the colloidal carbon clearance (B0% less than control 15 min later) but did not alter the nonspecific or the immune clearance of BTRYS.
4. We conclude that the removal of the opsonized parasites from the circulation is due to a mechanism different from that of the nonspecific clearance.

Resumo: A remoção dos tripomastigotas sangüíneos do *T. cruzi* (Btrys) da circulação é mediada principalmente pelo sistema mononuclear fagocítico (SMF). No presente trabalho nós investigamos o "clearance" imune e inespecífico dos Btrys em 4 grupos de camundongos nos quais a atividade do SMF estava aumentada por tratamento com BCG ou diminuída por tratamento com sílica. O tratamento com BCG resultou em um aumento significante do clearance inespecífico de partículas de carvão e dos Btrys 22 dias após o tratamento com BCG porém sem nenhuma mudança no clearance imune dos parasitas. Pre-tratamento dos animais com sílica resultou em uma significante redução do clearance do carvão coloidal porém não alterou o clearance não-específico ou imune dos Btrys. Sugere-se que a remoção dos parasitas opsonizados da circulação é devida a um mecanismo diferente daquele do clearance inespecífico.

39. ZANETTI, C.R.; FAVORETTO, S.R.; TINO, M.S.; ALBAS, A.; VALENTINI, E.J.G.; PEREIRA, O.A. de C.
Reduced schedule of human antirabies immunization with fuenzalida & palacios vaccine.
Rev. Inst. Med. trop. São Paulo, 31 (1): 23-27, 19B9.

Abstract: The present study evaluates the humoral and cellular immune responses in 35 volunteers submited to short antirabies vaccination schedules with the Fuenzalida & Palacios vaccine based on the administration of doses on non consecutive days.
The volunteers were divided into two groups. The first group received a total number of five doses given on days 0, 4, 7, 20 and 35. The other group received four doses, the first one being a double dose given on day 0 and than three other single doses on days 7, 20 and 35.
The evaluation of humoral immune response was carried out by serum neutralization (SN) and indirect immunofluorescense (IIF) teats, while the cellular immune response was evaluated by lymphoblastic transformation assay (LTA) and skin test (ST).
According to our results these reduced schedules elicited early and effective humoral and cellular immune

responses to rabies antigen suggesting that new reduced schedules should be extensively studied in order to give the proper bases to the proposition of changes in the current long-term schedule.

Resumo: O objetivo do presente trabalho foi estudar um novo esquema de vacinação anti-rábica humana, com um menor número de doses, administradas em dias não consecutivos (5 doses nos dias 0, 4, 7, 20 e 35). A avaliação da resposta imune humoral foi feita pela prova de soroneutralização e pela reação de imunofluorescência indireta, enquanto que a resposta imune celular foi avaliada pela transformação linfoblástica em cultura de sangue total e pelo teste cutâneo de leitura tardia.
Foi estudado um total de 35 voluntários, submetidos ao esquema reduzido de vacinação, e os resultados encontrados permitem afirmar que, embora o número de casos seja relativamente pequeno, este novo esquema de vacinação mostrou-se capaz de induzir a produção de imunoglobulinas anti-rábicas, bem como de elicitar a resposta imune celular ao antígeno rábico.

(1988)*

40. LABROUSSE, H.; NISHIKAWA, A.K.; BON, C.; AVRAMEAS, S.
Development of a rapid and sensitive enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for measuring venom antigens after an experimental snake bite.
Toxicon, 26(12): 1157-1167, 1988.

Abstract: We describe a new ELISA which allows the measurement of the concentration of venom antigens in whole blood. The assay can be performed in less than 20 min and requires a 200 ul sample of blood. It allows the accurate evaluation of concentrations of *Vipera ammodytes* venom in quantities smaller than l ng/ml of blood. Using this ELISA, we were able to fallow in rabbits the kinetcs of experimental envenomation with non-lethal doses of venom. This ELISA was also used to measure *post mortem* the level of venom antigens in various tissues such as liver, kidnei, muscles and abdominal serosity of a rabbit. The method, which might be adapted to measure envenomation by other snake species, seems to be sufficiently rapid and sensitive to allow routine evaluation of the gravity of a snake bite in humans and to estimate the efficacy of immunotherapy.

Resumo: Descrevemos um novo teste Elisa que permite quantificar a concentração de veneno em sangue total. O teste pode ser realizado em menos de 20 minutos e requer uma amostra de 200 l de sangue. Isto permite a avaliação precisa da concentração do veneno de *Vipera ammodytes* em quantidades menores do que 1ng/ml de sangue. Através deste teste, fomos capazes de acompanhar a cinética de um envenenamento experimental em coelhos com doses não letais de veneno. Este teste ELISA também foi usado para medir o nível de veneno em vários tecidos como o fígado, rim, músculos e serosidade abdominal de um coelho "post mortem".
O método, que pode ser adaptado para quantificar o envenenamento por outras espécies de serpentes, parece ser suficientemente rápido e sensível que permite a avaliação rotineira da gravidade de uma picada de serpentes em humanos e para estimar a eficácia da imunoterapia.

41. LAPORTA-FERREIRA, I.L.; SALOMÃO, M. da G.; SAWAYA,P.; PUORTO,G.
Mecanismo de tomada de alimento por serpentes tropicais moluscófagas (*Sibynomorphus neuwiedi* e *Sibynomorphus mikani*). Adaptações morfofisiológicas do esqueleto cefálico.
Bol. Fisiol. Anim., S. Paulo, *12*:81-88, 1988.

Resumo: Sibynomorphus neuwiedi e *Sibynomorphus mikani*, (Colubridae, Dipsadinae) que se diferenciam não só pela distribuição geográfica (a primeira restrita ao litoral e a segunda ao continente), como também pela folidose, foram aqui consideradas. São espécies que se distinguem também pela disposição e dimensões dos ossos da cabeça. Observou-se, além disso, que o índice esquamosal-quadrado é significativamente diferente em cada uma das duas espécies, ao contrário do que se verifica com os índices dentário-mandibular e maxilar--transverso. Tais diferenças não foram observadas nos animais jovens dessas espécies. Esses dados contribuíram substancialmente para explicar a possibilidade de o *Sibynomorphus neuwiedi* retirar moluscos gastrópodes das conchas sem fraturá-las. O mesmo não acontece com *Sibynomorphus mikani*, cujo alimento preferido são moluscos desprovidos de conchas, geralmente da família Veronicellidae.

Abstract: Tropical snakes *S. neuwiedi* and *S.mikani.* (Colubridae-Dipsadinae) revealed differences not only in the head osteology but, also a significant difference between the rate squamosal — quadrate for the two species, but there is no difference for the rate dentary-mandible and maxillary — ectopterygoid. Such differences were not observed in the youngs. The structure and disposition of those bones can explain the possibility for*S.neuwiedi* to remove the molluscs *Bradybaena* and *Biomphalaria*, their unique food source, from their shells which are left intact. On the other hand *S.mikani* eats only molluscs without shells, chiefly those on the family Veronicellidae.

42. SANTOS,R.C.S. dos; OHTSUBO, I.; MOURA, J.W.; CASTRO,N.H.C. de; BARNABE,R.C.; BEÇAK,W.
A translocação 1/29 em bovinos: características e conseqüências.
Comun. cient. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 12(1):71-81, 1988.

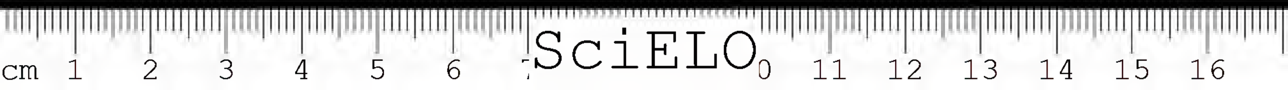
Resumo: Os principais estudos realizados sobre as características da translocação Robertsoniana 1/29 em bovinos são discutidos, de maneira a enfatizar as conseqüências deletérias do uso de portadores 1/29 em sistemas de inseminação artificial e a conseqüente disseminação da anomalia.

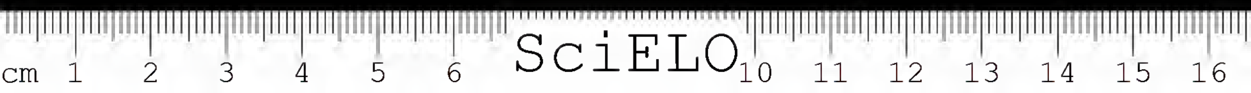
Abstract: The authors present a review and discussion of the characteristics and effects of the Robertsonian translocation 1/29 in cattle. The deleterious consequences of 1/29 carriers in Artificial Insemination Programs are emphasized in order to prevent its dissemination.

* Trabalhos que não constaram do v. 51(4): 239-254,1989.

ÍNDICE DE AUTOR/AUTHOR INDEX






cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

Mem. Inst. Butantan
52(3): 107-111, 1990.

LISTA REMISSIVA DOS TRABALHOS PUBLICADOS NAS MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN, 47/48-51, 1983/84-1989

ANATOMIA COMPARADA

954. GOMES, N. Osteologia comparada de duas espécies do gênero *Crossodactylodes* Cochran, 1938 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Mem. Inst. Butantan;* 50 (2): 51-61, 1988.

ANATOMIA PATOLOGICA

955. DENARO-MACHADO, L.; KFOURI, S.A.; OGATA, T.R.P.; MACHADO, J.C.; PAULA, G.A.; BARBOSA, L.S.; FERREIRA, R.F.G.; PRETELLA, S.M.C.N. Variação do comportamento biológico do tumor humano KB, heterotransplantado seriadamente em ratos "nude" atímicos. *Mem. Inst. Butantan*, 51 (4): 169-176, 1989.
956. VEINERT, T.; BELLUOMINI, H.E.; IIZUKA, H.; FEDULLO, J.D.L. Necrose de ponta de cauda em *Eunectes notaeus Cope*, 1862 (Serpentes, Boidae, Boinae). *Mem. Inst. Butantan*, 47/48: 189-194, 1983/84.

ARACNÍDEOS E ARTRÓPODES

957. EICKSTEDT, V.R.D. von. Escorpionismo por *Tityus stigmurus* no Nordeste do Brasil. (Scorpiones, Buthidae). *Mem. Inst. Butantan*, 47/48:133-137, 1983/84.
958. LEVI, H.W. & EICKSTEDT, V.R.D. von. The Nephilinae spiders of the neotropics (Araneae: Tetragnathidae). *Mem. Inst. Butantan*, 51 (2): 43-56, 1989.
959. LOURENÇO, W.R. & EICKSTEDT, V.R.D. von. Contribuição ao conhecimento taxonômico dos escorpiões associados ao grupo *Tityus melanostictus* Pocock, 1893 (Scorpiones, Buthidae). *Mem. Inst. Butantan*, 49 (3): 87-95, 1987.
960. LUCAS, S.; KNYSAK, I.; ZVEIBIL,L. O gênero *Rachias* Simon, 1892, Araneae, Ctenizidae, Nemesieae. *Mem. Inst. Butantan*, 47/48: 5-11, 1983/84.
961. MATTHIESEN, F.A. Anomalias morfológicas externas em escorpiões brasileiros. *Mem. Inst. Butantan*, 51 (2): 63-67, 1989.

BACTERIOLOGIA

962. ALEXANDRE, S.R.; LOPES, S.F.; RIGHETTI NETO, C.; MALUCELLI, M.I.C. Isolamento e identificação de bactérias intestinais de camundongos N:NIH (S), destinados a testes biológicos de vacinas bacterianas. *Mem. Inst. Butantan*, 51 (2): 57-62, 1989.

BIOLOGIA

963. HEITZMANN-FONTENELLE, T.J. Bionomia comparativa de triatomíneos. II. *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911 (Hemiptera, Reduviidae). *Mem. Inst. Butantan*, 47/48: 157-164, 1983/84.
964. HEITZMANN-FONTENELLE, T.J. Bionomia comparativa de triatomíneos. V. *Triatoma lenti* Scherlock & Serafim, 1967 (Hemiptera, Reduviidae). *Mem. Inst. Butantan*, 47/48: 165-174, 1983/84.
965. HEITZMANN-FONTENELLE, T.J. Bionomia comparativa de triatomíneos. VI — Híbridos de *Triatoma brasiliensis* Neiva, 1911. X. *Triatoma lenti*, Sherlock & Serafim, 1967 (Hemiptera, Reduviidae). *Mem. Inst. Butantan*, 47/48: 175-181, 1983/84.
966. HEITZMANN-FONTENELLE, T.J. Bionomia comparativa de triatomíneos. VII — *Rhodnius neglectus* Lent,

1954 (Hemiptera, Reduviidae). *Mem. Inst. Butantan*, 47/48: 183-188, 1983/84.

967. LIZAZO, N.M. Ectoparasitismo em serpentes: observações gerais e algumas considerações sobre o gênero *Ixobióides* Fonseca, 1934 (Acarina). *Mem. Inst. Butantan*, 47/48: 143-155, 1983/84.
968. OBA, M.S.P. & SCHUMAKER, T.T.S. Estudo da biologia de *Amblyomma rotundatum* (Koch, 1944) em infestações experimentais de *Bufo marinus* (L., 1758) sob condições variadas de umidade relativa e de temperatura do ar. *Mem. Inst. Butantan*, 47/48: 195-204, 1983/84.

BIOTÉRIO

969. IIZUKA, H.; CANTER, H.M.; OLIVEIRA, E.P.T. de; HIGASHI, H.G.; ROLIM ROSA, R. Estomatite ulcerativa infecciosa em *Boa constrictor constrictor* mantidas em cativeiro. *Mem. Inst. Butantan*, 47/48: 113-120, 1983/84.
970. LEINZ, F.F.; DAMY, S.B.; ISHIZUKA, M.M.; FERREIRA, M.A.M. Aspectos de produção de cobaias (*Cavia porcellus*). I. Efeitos estacionais que afetam a reprodução. *Mem. Inst. Butantan*, 49 (2): 47-54, 1987.
971. LEINZ, F.F.; DAMY, S.B.; ISHIZUKA, M.M.; CHAGURI, L. do C.A.G. Aspectos de produção de cobaias (*Cavia porcellus*). II. Análise de produtividade. *Mem. Inst. Butantan*, 49 (2): 55-61, 1987.

BIOQUÍMICA

972. KOCHVA, E.; BDOLAH, A.; GRAUR, D.; WOLLBERG, Z. Sarafotoxins, a new group of cardiovascular modulator from snake venom. *Mem. Inst. Butantan*, 51 (4): 205-210, 1989.
973. REICHL, A.P.; SERRANO, S. de T.; ASSAKURA, M.T.; MANDELBAUM, F.R. Isolation and properties of a phospholipase A_2 from the snake *Bothrops moojeni* (Caissaca). *Mem. Inst. Butantan*, *51* (4): 225-237, 1989.
974. TU, A.T. & MILLER, R.A. Biochemical studies of the sea snake neurotoxins. *Mem. Inst. Butantan*, *51* (4): 177-193, 1989.

COLETÂNEA DE TRABALHOS

975. Coletânea de resumos de trabalhos publicados pelos pesquisadores do Instituto Butantan.

(1978-1986)	— *Mem. Inst. Butantan*,	*49*(3): 99-141,	1987
		50(3): 111-115,	1988
(1987)	— *Mem. Inst. Butantan*,	*50*(3): 103-110,	1988
		51(4): 250-251,	1988
(1988)	— *Mem. Inst. Butantan*,	*51*(4): 239-254,	1989
		52(3): 103,	1990

ENGENHARIA GENÉTICA E VACINAS

976. ARNON, R. Synthetic peptides as the basis for anti-viral vaccines. *Mem. Inst. Butantan*, 50 (supl.): 71-72, 1988.
977. BERGMAN, I.E.; AUGE DE MELLO, P.; SCODELLER, E.; TORRE, J.L. la Perspectives of genetic engineering vaccines against foot and-mouth disease. *Mem. Inst. Butantan*, 50 (supl.): 21-30, 1988.
978. FLOETER-WINTER, L.M.; WINTER, C.E.; AFFONSO, M.H.T.; WYCHWSKI, C.; ORTIGÃO, F.; GIRARD, M.; BEÇAK,W. Poliovirus sequences cloning into vaccina virus. *Mem. Inst. Butantan*, 50 (supl.): 41-43, 1988.
979. GALLER, R.; POST, P.R.; MUYLAERT, I.; CALCAGNOTTO, A.M.; ALBUQUERQUE, M.M.; SANTOS, C.N.D. Perspectives for the development of dengue virus vaccines. *Mem. Inst. Butantan*, 50 (supl): 45-51, 1988.
980. JAFFE, C.L. Approaches towards vaccination against Leischmaniasis. *Mem. Inst. Butantan*, 50 (supl.): 15-18, 1988.
981. MANCINI, D.A.P.; VILELA, C.A.; MOREIRA, M.M. Avaliação "in vivo" da vacina bivalente contra a gripe, produzida no Instituto Butantan. *Mem. Inst. Butantan*, 49 (1): 21-24, 1987.
982. NEURATH, R.; JAMESON, B.A.; HUIMA, T. Hepatitis B virus proteins eliciting protective immunity. *Mem. Inst. Butantan*, 50 (supl.): 53-63, 1988.
983. SCHECTER, I. Molecular biology of schistosome; a step towards recombinant vaccines. *Mem. Inst. Butantan*, 50 (supl.): 19-20, 1988.
984. SCHECTER, I. The evolution of the split gene strategy and diversification of antibody molecules. *Mem. Inst. Butantan*, 50 (supl.): 39-40, 1988.
985. SCHRANK, A.; FARIAS, S.E.; CHIES, J.M.; ISEHARDT, S.V.; BECK, E.; ZAHA, A. Cloning and expression in *Escherichia coli* of C-DNA sequences encoding foot-and-mouth disease virus VP1. *Mem. Inst. Butantan*, 50 (supl.): 31-33, 1988.
986. SELA, M. Synthetic macromolecular antigens, drugs and vaccines. *Mem. Inst. Butantan*, 50 (supl.): 35-37, 1988.
987. TAKAMIZAWA,A.; YOSHIDA,I.; GOHDA,H.; KOHNOBE, T.; TAKAKU,K.; FUKAI,K. Development of a recombinant yHBs vaccine and its field trial. *Mem. Inst. Butantan*, *50* (supl.):65-69, 1988.
988. YEN LAI,C.; DHARM,E.; HEIMER,E. Purification and properties of genetically engineered protein containing the repeating sequence in the glicophorin-binding protein of malaria merozoite. *Mem. Inst. Butantan*, *50*(supl.):5-11, 1988.
989. ZAVALA,F. Development of a synthetic vaccine against malaria sporozoites. *Mem. Inst. Butantan*, *50* (supl.):13-14, 1988.

ENTOMOLOGIA

990. MORAES,R.H.P. & VEIGA,R.M. de O. Sobre uma rara anomalia em genitália de *Lutzomyia migonei* (França, 1920) (Diptera-Psychodidae-Phlebotominae). *Mem. Inst. Butantan*, *50*(2):41-45, 1988.

991. MORAES,R.H.P.; VEIGA,R.M. de O.; MARASSÁ,A.M. Adaptações em armadilha entomológica luminosa de sucção. *Mem. Inst. Butantan*, *51*(3):79-84, 1989.

FISIOLOGIA

992. CHUDZINSKI,A.M.; SEELAENDER,M.C.L.; KELEN,E.M.A. Standardization of anesthesia with pentobarbital in the snake *Bothorops jararaca*. *Mem. Inst. Butantan*, *51*(4):147-152, 1989.
993. VITAL BRAZIL,O. & FONTANA,M.D. Ações pré-juncionais e pós-juncionais da peçonha da cobra coral *Micrurus corallinus* na junção neuromuscular. *Mem. Inst. Butantan*, *47/48*:13-26, 1983/84.

GRIPE — VACINA

981. MANCINI,D.A.P.; VILELA, C.A.; MOREIRA,M.M. Avaliação "in vivo" da vacina bivalente contra a gripe, produzida no Instituto Butantan. *Mem. Inst. Butantan*, *49*(1):21-24, 1987.

IMUNOLOGIA
SOROS

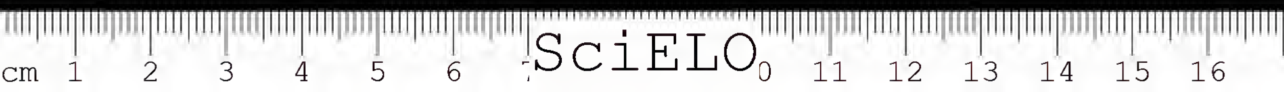
994. DIAS da SILVA,W.; GUIDOLIN,R.; RAW,I.; HIGASHI,H.G.; CARICATI,C.P.; MORAIS,J.F.; LIMA,M.L.S.R.; YAMAGUCHI,I.K.; NISHIKAWA,A.K.; STEPHANO,M.A.; MARCELINO,J.R.; PINTO,J.R.; SANTOS,M.J. Cross-reactivity of horse monovalent antivenoms to venoms of ten Bothrops species. *Mem. Inst. Butantan*, *51*(4):153-168, 1989.
995. DIAS,W. de O.; ESTEVES,M.I.; FURUTA,J.A.; HIGASHI,H.G.; MARCELINO,J.R.; OISHI,N.Y.; PRADO,S.M.A.; TANAKA,A.M.; UEDA,C.M.P.M.; RAW,I. Chromatographic purification of antivenoms and antitoxins. *Mem. Inst. Butantan*, *51*(4):195-203, 1989.
996. GUIDOLIN,R.; DIAS da SILVA,W.; HIGASHI,H.G.; CARICATI,C.P.; LIMA,M.L.S.R.; MORAIS,J.F.; PINTO, J.R.; MARCELINO,J.R. Hiperimunização de cavalos soro-produtores com venenos botrópicos e crotálico tratados por glutaraldeido. *Mem. Inst. Butantan*, *51*(3):85-90, 1989.
997. HIGASHI,H.G.; GUIDOLIN,R.; NISHIKAWA,A.K.; YAMAGUCHI,I.K.; STEPHANO,M.A.; JOSÉ dos SANTOS,M.; DIAS da SILVA,W.; UEDA,C.M.P.M. Produção de anticorpos antiveneno total de Crotalus durissus terrificus em cavalos por fosfolipase A_2. *Mem. Inst. Butantan*, *51*(3):91-100, 1989.
998. HIGASHI,H.G.; GUIDOLIN,R.; NISHIKAWA,A.K.; YAMAGUCHI,I.K.; LIMA,M.L.S.R.; MORAIS,J.F.; DIAS da SILVA,W. Venenos botrópicos pré-tratados com inibidores ativos para os sítios enzimáticos de proteases e com substância quelante preservam seu poder imunogênico. *Mem. Inst. Butantan*, *51*(3):107-115, 1989.
999. HIGASHI,H.G.; MORAIS,J.F.; GUIDOLIN,R.; MARCELINO,J.R.; DI SALVIO,V.M.P. Soro anti-rábico heterólogo de uso humano. Anticorpos inespecíficos. *Mem. Inst. Butantan*, *50*(1):21-27, 1988.
1000. HIGASHI,H.G.; OLIVEIRA,E.P.T. de; ROLIM ROSA,R.; SILVA,M.A. da; FRATELLI,F.; ENOKI,N.; IIZUKA,H. Preparação e teste da toxina botulínica tipo "E" e do seu antisoro específico. *Mem. Inst. Butantan*, *51*(1):5-13, 1989.
1001. MEBS,D. & KORNALIK,F. Studies on the cross-reactivity of snake venom anti-sera. *Mem. Inst. Butantan*, *51*(4):127-132, 1989.
1002. OISHI,N.Y.; UEDA,C.M.P.M.; DIAS,W. de O; LATRILHA,C.M.L.; RAW,I. The possible role of para-pepsin in the preparation of anti-venom sera. *Mem. Inst. Butantan*, *49*(2):41-45, 1987.
1003. VITAL BRAZIL,O. History of the primordia of snake-bite accident serotherapy. *Mem. Inst. Butantan*, *49*(1):7-20, 1987.

MICROSCOPIA ELETRONICA

1004. SPADACCI-MORENA,D.D.; MORENA,P.; CIANCIARULLO,A.M.; BRUNNER JUNIOR,A. Hemoglobin biosynthesis in bone marrow and peripheral blood erythroid cells of the snake *Waglerophis merremii* (Reptilia, Ophidia, Colubridae). *Mem. Inst. Butantan*, *51*(4):133-139, 1989.

OBITUÁRIO

1005. KARL HEINRICH SLOTTA. *Mem. Inst. Butantan*, *50*(1):5-14, 1988.
1006. LAURO PEREIRA TRAVASSOS FILHO. *Mem. Inst. Butantan*, *51*(3):73-78, 1989.
1007. ROSA PAVONE PIMONT. *Mem. Inst. Butantan*, *47/48*:1-2, 1983/84.
1008. WOLFGANG BUCHERL. *Mem. Inst. Butantan*, *47/48*:3-4, 1983/84.



COMISSÃO EDITORIAL. Lista remissiva dos trabalhos publicados nas **Memórias do Instituto Butantan, 47/48-51**, 1983/84-1989.

OFÍDIOS
BIOLOGIA

1009. LEINZ,F.F.; JANEIRO-CINQUINI,T.R.F.; ISHIZUKA,M.M.; LANG,L.V. Sobrevivência de *Bothrops jararacussu* (Serpentes, Viperidae, Crotalinae) mantidas em cativeiro. *Mem. Inst. Butantan, 51*(1):33-38, 1989.
1010. MANZANI,P.R. & ABE,A.S. Sobre dois novos métodos de preparo do hemipênis de serpentes. *Mem. Inst. Butantan, 50*(1):15-20, 1988.
1011. OLIVEIRA,C.M.de; CARDOSO JUNIOR,R.P.; BRUNCKHORST,C.S.; HOGE,A.Y.A. Cesariana e enterotomia em cascavel, *Crotalus durissus collilineatus* (Viperidae-Crotalinae). *Mem. Inst. Butantan, 50*(3):71-75, 1988.
1012. SAZIMA, I. Um estudo de biologia comportamental de jararaca, *Bothrops jararaca*, com uso de marcas naturais. *Mem. Inst. Butantan*, 50 (3):83-99, 1988.
956. VEINERT,T.; BELLUOMINI, H.E.; IIZUKA,H.; FEDULLO, J.D.L. Necrose de ponta de cauda em *Eunectes notaeus* Cope, 1862 (Serpentes, Boidae, Boinae). *Mem. Inst. Butantan*, 47/48: 189-194, 1983/84.

PARASITOLOGIA

1013. ARTIGAS,P.T. & UETA, M.T. Sobre a evolução de *Ascaris lumbricoides* Linnaeus, 1758, na fase larvar endovular. *Mem. Inst. Butantan*, 51(1):15-24, 1989.
1014. ARTIGAS,P.T. & PAULINO,R.C. *Zeferinella vazi* n.g.n. sp. (Plagiorchiidae), parasito de cavidade bucal e esôfago de *Erythrolampus aesculapii* (Ophidia, Colubridae). *Mem. Inst. Butantan*, 50(3):63-69, 1988.
1015. CORDEIRO,N.S.; ARTIGAS,P.T.; GIOIA,I.; LIMA, R.S. *Henneguya psiciforme* N. SP.; mixosporídeo parasito de brânquias do lambari *Hyphessobrycon anisitsi*. (Pisces, Characidae). *Mem. Inst. Butantan, 47/48*:61-69, 1983/84.
1016. De BIASI,P.; CARDOSO JUNIOR,R.P.; SANTOS,S.M. de A. Presença de *Hepatozoon plimmeri* (Sambon, 1909) — Coccidia, Haemogregarinidae — em exemplar de *Bothrops jararaca* (Wied, 1824) — Serpentes, Viperidae, Crotalinae — mantido em cativeiro. *Mem. Inst. Butantan, 51*(3):117-121, 1989.
969. IIZUKA,H.; CANTER, H.M.; OLIVEIRA,E.P.T. de; HIGASHI,H.G.; ROLIM ROSA,R. Estomatite ulcerativa infecciosa em *Boa constrictor constrictor* mantidas em cativeiro. *Mem. Inst. Butantan, 47/48*:113-120, 1983/84.
967. LIZAZO,N.M. Ectoparasitismo em serpentes: observações gerais e algumas considerações sobre o gênero *Ixobioides* Fonseca, 1934 (Acarina). *Mem. Inst. Butantan, 47/48*:143-155, 1983/84.
1017. MACHADO,S.M.P.; CORDEIRO,N. da S.; ARTIGAS,P.T.; MAGALHÃES,L.A. Algumas considerações sobre cercárias naturalmente encontradas em *Biomphalaria tenagophila* (Orgbigny, 1835), capturadas em Louveira, SP. *Mem. Inst. Butantan, 49*(3):79-86, 1987.
990. MORAES, R.H.P. & VEIGA, R.M. de O. Sobre uma rara anomalia em genitália de *Lutzomyia migonei* (França, 1920) (Diptera-Psychodidae-Phlebotominae). *Mem. Inst. Butantan*, 50(2):41-45, 1988.
991. MORAES, R.H.P.; VEIGA, R.M. de O.; MARASSÁ, A.M. Adaptações em armadilha entomológica luminosa de sucção. *Mem. Inst. Butantan, 51*(3):79-84, 1989.
968. OBA, M.S.P. & SCHUMAKER, T.T.S. Estudo da biologia de *Amblyomma rotundatum* (Koch, 1944), em infestações experimentais de *Bufo marinus* (L., 1758) sob condições variadas de umidade relativa e de temperatura do ar. *Mem. Inst. Butantan, 47/48:* 195-204, 1983/84.

QUÍMICA ORGÂNICA

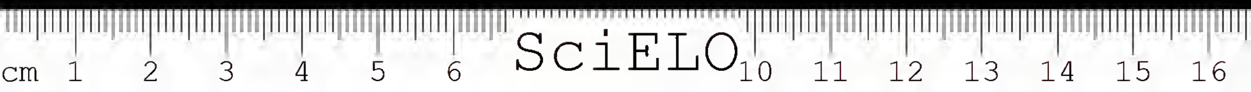
1018. MATIDA, A.K.; RABENHORST, E.; ZELNIK, R. A ocorrência de ácido ursólico em *Citharexylum myrianthum* (Verbenaceae). *Mem. Inst. Butantan, 47/48:*139-142, 1983/84.
1019. MATIDA, A.K.; ZELNIK, R.; OLIVEIRA, E.C.de. Identificação e caracterização de manitol em *Sargassum cymosum* Agardh, uma alga parda do litoral brasileiro. *Mem. Inst. Butantan, 50*(2): 47-50, 1988.
1020. SILVA, M. de F.A.da; LANDSHOFF, F.M.; BUONONATO, M.; ZELNIK, R. A ocorrência de taurina na anêmona-do-mar *Phyllactis flosculifera* Lesueur 1817, *Mem. Inst. Butantan, 50*(3): 77-81, 1988.
1021. ZELNIK, R.; MARTELLINI-LANDSHOFF, F.; RABENHORST, E. Chemistry of the brazilian Labiatae. Terpenoids constituents of *Lepechinia speciosa* (Sr. Hil.) Epling. *Mem. Inst. Butantan,51*(3): 101-106, 1989.
1022. ZELNIK, R.; SILVA, M. de F.A.da; MARTELLINI-LANDSHOFF, F.; HAIDER, A. The occurrence of N-Methyltaurine in the sea anemone *Bunodosoma caissarum*. *Mem.Inst.Butantan, 51*(4):141-146,1989.

VACINA PERTUSSIS

1023. MALUCELLI, M.I.C. & CARVALHO, J.P.P. Produção de vacina pertussis por diferentes processos. Níveis de proteção e aspectos econômicos. *Mem. Inst. Butantan, 47/48:*81-94, 1983/84.

VENENOS
ARACNÍDICOS

1024. CICARELLI, R.M.B.; SILES VILLARROEL, M.; LUCAS, S. Avaliação da atividade tóxica do veneno de *Lycosa erythrognatha* em termos de DL_{50} e titulação do antiveneno em camundongos. *Mem. Inst. Butantan, 47/48:*45-53, 1983/84.



1025. CICARELLI, R.M.B.; SILES VILLARROEL, M.; ZELANTE, F. Avaliação da atividade tóxica do veneno de *Loxosceles gaucho*, em termos de DL_{50} e titulação do antiveneno específico em camundongos. *Mem. Inst. Butantan, 47/48:*45-53, 1983/84.
1026. CICARELLI, R.M.B.; SILES VILLARROEL, M.; ROLIM ROSA, R. Avaliação da atividade tóxica do veneno de *Phoneutria nigriventer* em termos de DL_{50} e titulação do antiveneno em camundongos. *Mem. Inst. Butantan, 47/48:*27-32, 1983/84.
1027. CICARELLI, R.M.B.; SILES VILLARROEL, M.; GUIDOLIN, R.; CRIVELLARO, O. Estudo imunoquímico dos venenos araneicos das espécies. *Loxosceles gaucho, Phoneutria nigriventer* e *Lycosa erythrognatah. Mem. Inst. Butantan, 47/48:*33-43, 1983/84.
1028. VITAL BRAZIL, O. Spider venoms acting on the sodium Channel. *Mem. Inst. Butantan, 49*(1):25-33, 1987.

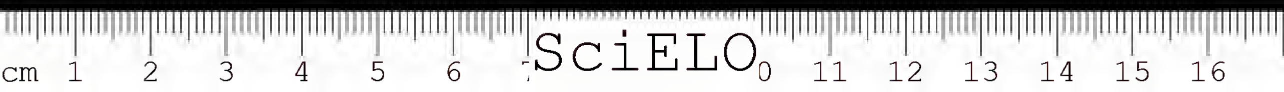
VENENOS OFÍDICOS

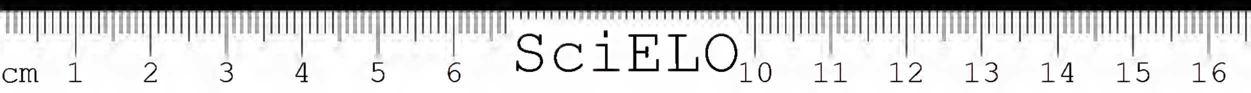
1029. BERCOVICI, D.; CHUDZINSKI, A.M.; DIAS, W. de O.; ESTEVES, M.I.; HIRAICHI, E.; OISHI,N.Y.; PICARELLI, Z.P.; ROCHA, M.C. da; UEDA, C.M.P.M.; YAMANOUYE, N.; RAW, I. A systematics fractionation of *Crotalus durissus terrificus* venom. *Mem.Inst.Butantan, 49*(3):69-78, 1987.
1030. GUTIÉRREZ, J. M. & LOMONTE, B. Local tissue damage induced by *Bothrops* snake venoms. A review. *Mem. Inst. Butantan, 51*(4): 211-223, 1989.
1031. PERRONE, M.A.L.; SILES VILLARROEL, M.; FURTADO,M.de F.D. Estudo comparativo entre os venenos de serpentes do gênero *Bothrops*, procedentes do Estado de São Paulo e do Estado do Paraná com algumas espécies morfologicamente duvidosas. *Mem.Inst.Butantan, 51*(1):25-32, 1989.

VENENOS OFÍDICOS

1032. SILVA, M.V.da & BUONONATO, M.A. Relato clínico de envenenamento humano por *Philodryas olfersii. Mem. Inst. Butantan, 47/48:*121-126, 1983/84.
1033. VIEIRA, E.G.J.; ROLIM ROSA, R.; IIZUKA, H.; FURTADO, M. de F.D.; FERNANDES, W. Influências sazonal e do processo de extração sobre a produção, toxicidade do veneno e sobrevida de *Bothrops jararaca* (Wied, 1824). *Mem. Inst. Butantan, 50*(1):29-35, 1988.

Obs.: Os números das referências que aparecem repetidos indicam que esses trabalhos aparecem em mais de um assunto.




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

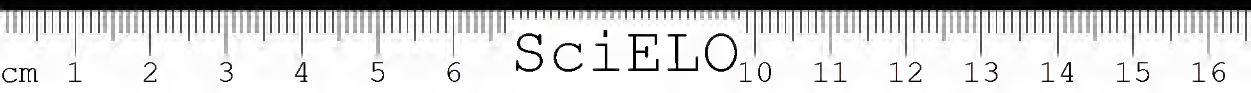
BOLETIM DE BIOTECNOLOGIA

VOLUME 1 — 1990 ISSN 0103-6548



Secretaria de Estado da Saúde
Coordenação dos Institutos de Pesquisa
Instituto Butantan

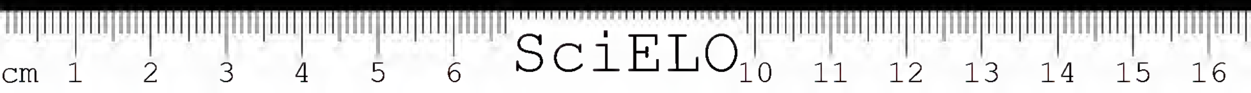
SUMÁRIO


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

EDITORIAL

Ao lançar o BOLETIM DE BIOTECNOLOGIA, o Instituto Butantan visa oferecer a oportunidade de apresentações breves e atualizadas de desenvolvimentos tecnológicos e pesquisas dirigidas à produção de imunobiológicos. É prática comum, especialmente entre técnicos que militam nas áreas de produção, aproveitamento de informações recolhidas no dia-a-dia de trabalho que, apesar de não se revestirem com o planejamento da pesquisa científica, constituem bases sobre as quais se alicerçam as diretrizes para a preparação e controle de produtos biológicos. Espera-se que estas informações de inestimável valor prático não se percam, tornando-se acessíveis a técnicos e pesquisadores que se dedicam à produção e ao controle de produtos biológicos.

By publishing the Biotechnology Bulletin, the Institute Butantan expects to offer an opportunity for the divulgation of brief papers in the research and development of immunobiological products. It is a common sense that those involved in the manufacture of these products gather, in their daily activities, informations which, although not planned as for an original research, may provide data for the yield and control of such products. We hope that these worthwhile informations will be available to technicians and investigators who are active in this field.


cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

Bol. Biotecnol.
1: 5 — 9, 1990

SUERO ANTILATRODECTUS: ESQUEMA REDUCIDO PARA HIPERINMUNIZACION DE EQUINOS

C. GÓMEZ*
G. GUILLEN*
J. BERNAGOZZI*
N. STANCHI**
J. GARABANO*

RESUMO: Executou-se diferentes esquemas para produção de soro antilatrodectus, com o objetivo de reduzir a quantidade de antígeno, assim como o tempo necessário para a obtenção de altos títulos de anticorpos neutralizantes. Os resultados foram comparados com os obtidos pelo esquema clássico de hiperimunização usado até o presente pelo Laboratório Central de Saúde Pública da província de Buenos Aires (Argentina). De acordo com os resultados obtidos, o esquema reduzido apresenta uma sensível economia no tempo e quantidade de antígeno usado, assim como mediante elevação dos títulos nos testes de neutralização.
UNITERMOS: Soro antilatrodectus, hiperimunização, esquema reduzido.

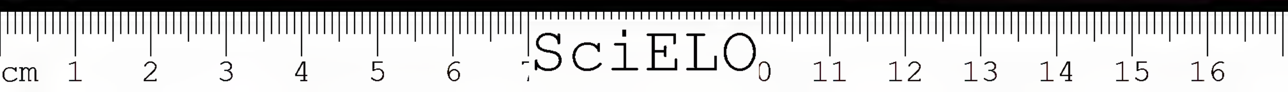
INTRODUCCION

En la produción de inmunosueros, ya sea terapéuticos o profilácticos una de las preocupaciones fundamentales, es la obtención de los mismos, con alta especificidad, en el tiempo más corto, con el más bajo consumo de antígeno, y utilizando el menor número de animales. Lo relacionado al antígeno es de vital importancia cuando éste es de difícil obtención por el productor de inmunosueros o debe ser obtenido a través de terceros.

Este es el caso particular de *Latrodectus mirabilis* (Holmberg, 1876) para la producción de suero antilatrodectus por el Laboratorio Central de Salud Pública de la Provincia de Buenos Aires.

El presente trabajo se realizó con el propósito de comparar esquemas de in-

* Laboratório Central de Salud Pública. Pcia Buenos Aires — Argentina.
** Becario Comision Investigaciones Científicas. Provincia de Buenos Aires.
Recebido para publicação em 14.11.1989 e aceito em 27.9.1990.



munización cortos con dosis reducidas de antígeno frente a los utilizados rutinariamente en este laboratorio para la elaboración de dichos inmunosueros en equinos.

MATERIALES Y METODOS

1. Aparatos de **Latrodectus mirabilis** (anteriormente clasificada como **Latrodectus mactans**)[1,4] fueron provistos por el Laboratorio y Museo de Animales Venenosos (LYMAV) de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Las Plata. Los mismos se obtuvieron por disección bajo lupa estereoscópica y fueron conservados em desecador con sílica gel y al vacío.

2. Titulación de toxicidad:

a) Por observación bajo lupa se procedió a la separación y conteo de aparatos de manera de obtener luego una suspensión que contuviera 4 aparatos/ml.

b) Los aparatos fueron triturados en mortero estéril y suspendidos en solución fisiológica tamponada pH 7,2-7,4 estéril.

c) La suspensión fue centrifugada a 1500 rpm a temperatura ambiente, durante 2 min.

d) Con el sobrenadante se realizaron 5 diluciones en factor 2, con la misma solución salina utilizada en el punto b.

e) Las diluciones fueron inoculadas previa incubación a temperatura ambiente por 60 min, por via intraperitoneal a ratones albinos de 18-20 g de peso y de un mismo sexo, a razón de 0,5 ml por animal, utilizándose 4 animales por dilución.

f) La DL_{50} se definió como la cantidad de aparatos necesaria para provocar la muerte del 50% de los animales inoculados en 96 horas y calculadas por el método de Spearman-Karber.[3]

3. Animales productores de suero: Equinos machos castrados, entre 300 y 400 kg, nunca antes utilizados en la elaboración de sueros hiperinmunes, vacunados con toxoide tetánico (dos dosis con intervalo de cuatro semanas), y con serología negativa para Anemia Infecciosa Equina (prueba de inmunodifusión de Coggins).

4. Obtención de antivenenos:

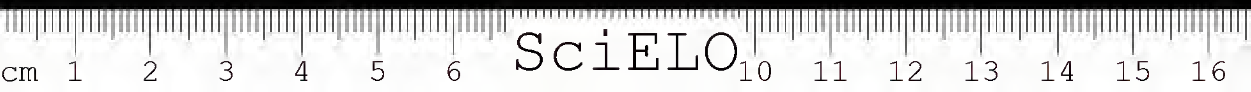
4.1. Esquemas de inmunización: se inocularon seis equinos en cada esquema

4.1. Esquema clásico: El plan consistió en seis inoculaciones via subcutánea en la región dorsal de los equinos, con siete dias de intervalo entre ellos. En la primeira se emulsionó[2] dos aparatos en adyuvante completo de Freund y los siguientes cuatro, ocho, dieciseis, treinta y dos, y sesenta y cuatro aparatos triturados y suspendidos en solución salina estéril.

4.2. Esquema reducido: El plan consistió en seis inoculaciones via subcutánea en la región dorsal de equinos. La primeira consistió en tres aparatos triturados y suspendidos en solución salina estéril: 5 ml, adicionado de 5 ml de Adyuvante Completo de Freund (Sigma Corp.), en dos punto de inoculación.

La segunda consistió en cinco aparatos triturados y suspendidos en solución salina estéril con el agregado de 5 ml de Adyuvante incompleto de Freund (Sigma corp), e inoculado en la misma forma que las anteriores. La tercera fue realizada en la misma forma que la segunda pero utilizando 10 aparatos. La cuarta se realizó con cinco aparatos triturados y suspendidos en solución salina estéril sin el agregado de adyuvantes e inoculado en torno a los granulomas de las inyecciones anteriores. La quinta y sexta inoculación se realizaron en la misma forma descripta para la cuarta.

Los intervalos de inoculaciones fueron de 7 días entre las tres primeras dosis y de dos días para las restantes.



5. Sangrias:
Sangría exploratriz: Consistió en extracciones por punción yugular de 20 a 30 ml de sangre de cada animal, recogidas en tubos de ensayo estéril sin anticoagulante, relizadas 7 días después de la última inoculación.
Sangría parcial: Cada animal fue sangrado en un volumen de 9 litros por trocar en la yugular y recepcionado en un frasco estéril con citrato de sodio al 15% (250 ml) como anticoagulante. El plasma se separó luego de 24 horas por decantación espontánea y luego se purificó según el método del Instituto Clodomiro Picado de Costa Rica, preconizado por la O.M.S. [2,3,5,6,7]
6. Determinación de la capacidad neutralizante de los inmunosueros:

a) Por observación bajo lupa se separaron y contaron aparatos completos de manera de preparar luego una suspensión que contuviera 2 DL50 por animal a inocular.

b) Se preparó una suspensión por trituración en mortero estéril de los aparatos, los que posteriormente se suspendieron en solución fisiológica estéril tamponada a pH 7, 2-7, 4 y se centrifugraron a 1500 rpm durante 2 min a temperatura ambiente.

c) De acuerdo al título esperado en el suero a valorar, utilizando una dilución 1/100 del mismo, se enfrentaron cantidades crecientes de esta dilución, de manera de cubrir estimaciones de títulos desde 1000 DL_{50}/ml a 5000 DL_{50}/ml aproximadamente, manteniendo fija la cantidad de veneno a inocular como se indica en el punto

a) y completando el volummen con solución fisiológica estéril tamponada.

d) La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 60 min, como así también el control de la DL_{50} que se prepara simultáneamente como se describió en el punto 2.

e) Posteriormente se inoculan 4 ratones albinos por dilución, por via intraperitoneal y de las mismas características del punto 2 e.

f) Se registraron las muertes diariamente durante 96 horas y se calculó la DL_{50} por el método de Spearman-Karber [3], expresándose en DL_{50} neutralizadas por ml de suero.

RESULTADOS

La cantidad de aparatos utilizados en la inmunización en los planes clásico y reducido, así como también el tiempo en días insumido y los títulos de anticuerpos expresados en DL_{50} neutralizadas/ml de suero se detalla en la tabla 1.

Los títulos de anticuerpo netrualizantes fueran superiores en el plan reducido con respecto al plan clásico. La cantidad de aparatos utilizados en el esquema base del plan reducido fueron un tercio del utilizado en el plan clásico. El tiempo total de inmunización en días fue la mitad en el plan reducido.

Tabla 1

Número de aparatos utilizados, tiempo en días y títulos de anticuerpos neutralizantes en suero, en los esquemas clásico y reducido de hiperinmunización.

Plan de inmunización	Nº de aparatos utilizados	Tiempo en días	Título del suero DL_{50} neutralizante/ml
clásico	126	50	964
reducido	33	27	1480

DISCUSION

Piroski y col[9] ya elaboraban este suero en 1940, inoculando cefalotórax en cantidades progresivas a intervalos semanales utilizando en planes de inoculación basal 1436 cefalotórax y en los de refuerzo 820 de los mismos, siendo el período de realización de 90 y 50 días respectivamente.

En 1982 el Laboratorio Central de Salud Pública comenzó con la elaboración de suero anti-latrodectus en equinos, consistiendo el plan en seis inoculaciones con 7 días de intervalo entre ellas, con un insumo total de 126 aparatos de *Latrodectus*.

Los resultados obtenidos por investigadores del Instituto Butantan y de Salud de México[8,10] en sueros anti-veneno ofídico con la utilización de planes cortos de inmunización nos llevaron a la aplicación de planes reducidos para la producción de sueros antibothrópicos con buenos resultados.

Posteriormente los mismos investigadores experimentaron planes rápidos en arácnidos con *Lycosa erytronatha, Phoneutria sp., Loxoceles sp.* (11). Los lorgros alcanzados por ellos, nos llevaron a su aplicación en la inmunización con *Latrodectus mirabilis* para la producción de suero antilatrodectus por este laboratorio con los resultados detallados.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el método representa una sensibile economía de tiempo, de animales suero-productores y de antígeno utilizado en la hiperinmunización, así como también la obtención de anticuerpos neutralizantes a título satisfactorio en el esquema de base. No fueron observadas reacciones locales intensas como absesos o necrosis en los puntos de inoculación de los antígenos para ambos esquemas con excepción de un equino del esquema clásico en la última aplicación.

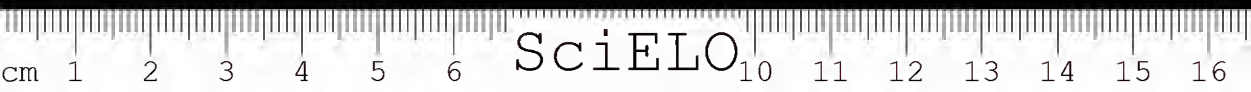
AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Sr. Carlos Grisolía, Jefe del Laboratorio y Museo de Animales Venenosos, por la provisión de aparatos de *Latrodectus mirabilis*. A la Dra. Nora Dellepiane, Jefe Dto. Contralor, Instituto Nacional de Microbiologia "Carlos Malbran", y Dr. Ramón de Torres, por sus observaciones y por la revisión del manuscrito. Al Sr. Alfredo Navarro, Técnico Químico del Sector Productos Bacterianos del Depto. Control de Calidad del Laboratorio Central de Salud Pública por la asistencia técnica prestada.

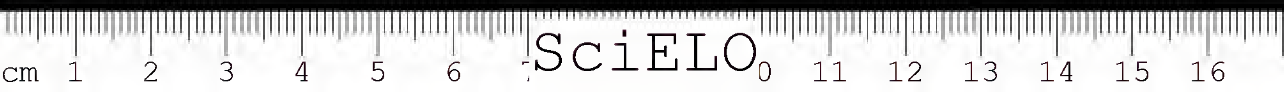
ABSTRACT: Different equine immunization schemes for production of antilatrodectus serum were carried out in order reduce the amount of antigen as well as the time needed obtain high neutralizing titers. The results were compared with those of the classical hiperimmunization scheme used at the present by Public Health Laboratory (Buenos Aires Province, Argentina). According to the obtained results, the reduce scheme presents a sensitive decrease in the time spent, in the antigen used, and as well as, an immediate elevation in the neutralizing titers test.
KEYWORDS: Antilatrodectus serum, hiperimmunization, reduced scheme

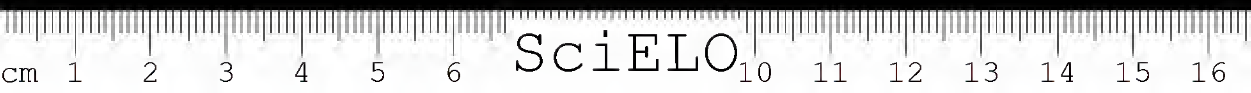
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABALOS, J.W. Las aranãs del género latrodectus de Argentina. Centenário del Museo de La Plata. 1981. v.6.
2. BOLANÕS, R. & CERDAS, L. Producción y control de sueros antiofídicos en Costa Rica. *Bol. Of. Sanit. Panamericana*, 88(3): 189-196, 1980.
3. FINNEY, D.J. Statistical method in biological assays. Londres, Griffin & Co.,.1952.



4. GRISOLÍA, C. Araneismo en la Pcia. de Buenos Aires. Buenos Aires, Ministério de Salud, 1983.
5. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Normas para sueros inmunes de orígen animal. Informe Técnico nº 413. Ginebra, OMS, 1969. (Normas para substâncias biológicas nº 18.)
6. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Normas para sueros antiponzoñosos. Informe Técnico nº 463. Ginebra, OMS, 1971. (Normas para substâncias biológicas nº 21).
7. ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Manual de procedimientos. Producción y pruebas de control en la preparación de antisueros diftérico, tetánico, botulínico, de la gangrena gaseosa y antivenenos. Washington, OPAS, 1977.
8. OROPEZA, R.M.; GARCÍA PÉREZ, G.; CALDERÓN, M.S. Esquema modificado para la obtención de sueros antiofídicos. *Rev. Invest. Salud Públ.*, México, *32*:179-186, 1972.
9. PIROSKY, I.J.; SAMPAYO, R.F. Suero antilatrodectus. *Rev. Inst. Bact. Carlos Malbrán*, *11*:83-93, 1942.
10. ROLIM ROSA, R.; VIEIRA, E.; SILES VILLARROEL, M.; SIRACUSA, Y.Q.; IIZUKA, H. Análise comparativa entre os diferentes esquemas de hiperimunização empregados na produção de soros antiofídicos pelo Instituto Butantan (1957-1979). *Mem. Inst. Butantan*, 44/45: 259-270, 1980-1981.
11. ROLIM ROSA, R.; SILES VILLARROEL, M.; VIEIRA, E.G.J.; IIZUKA, H.; NAVAS, J. Produção de soro antiaracnídico polivalente mediante inoculações simultâneas de venenos em um mesmo animal. *Mem. Inst. Butantan*, *44/45*: 253-258, 1980-81.




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

Bol. Biotecnol.
1: 9 11 — 15, 1990

PURIFICAÇÃO DE PLASMA ANTICROTÁLICO DE ORIGEM EQÜINA

Rosalvo GUIDOLIN*
Marco Antonio STEPHANO*
Hisako Gondo HIGASHI*
Odila Victor FERREIRA**
Wilmar Dias da SILVA**

RESUMO: Demonstra-se que algumas modificações introduzidas na técnica básica descrita por Pope e outros, de purificação de soros hiperimunes heterólogos, proporcionam rendimentos específicos acima de 60% de antiveneno (soro anticrotálico)
UNITERMOS: Soro anticrotálico, purificação, rendimentos

INTRODUÇÃO

Os soros imunes heterólogos (origem eqüina) para utilização humana, são purificados industrialmente pelo processo de digestão enzimática (pepsina), segundo a técnica descrita por Pope[6,7,8] ou por modificações dessa técnica[2].

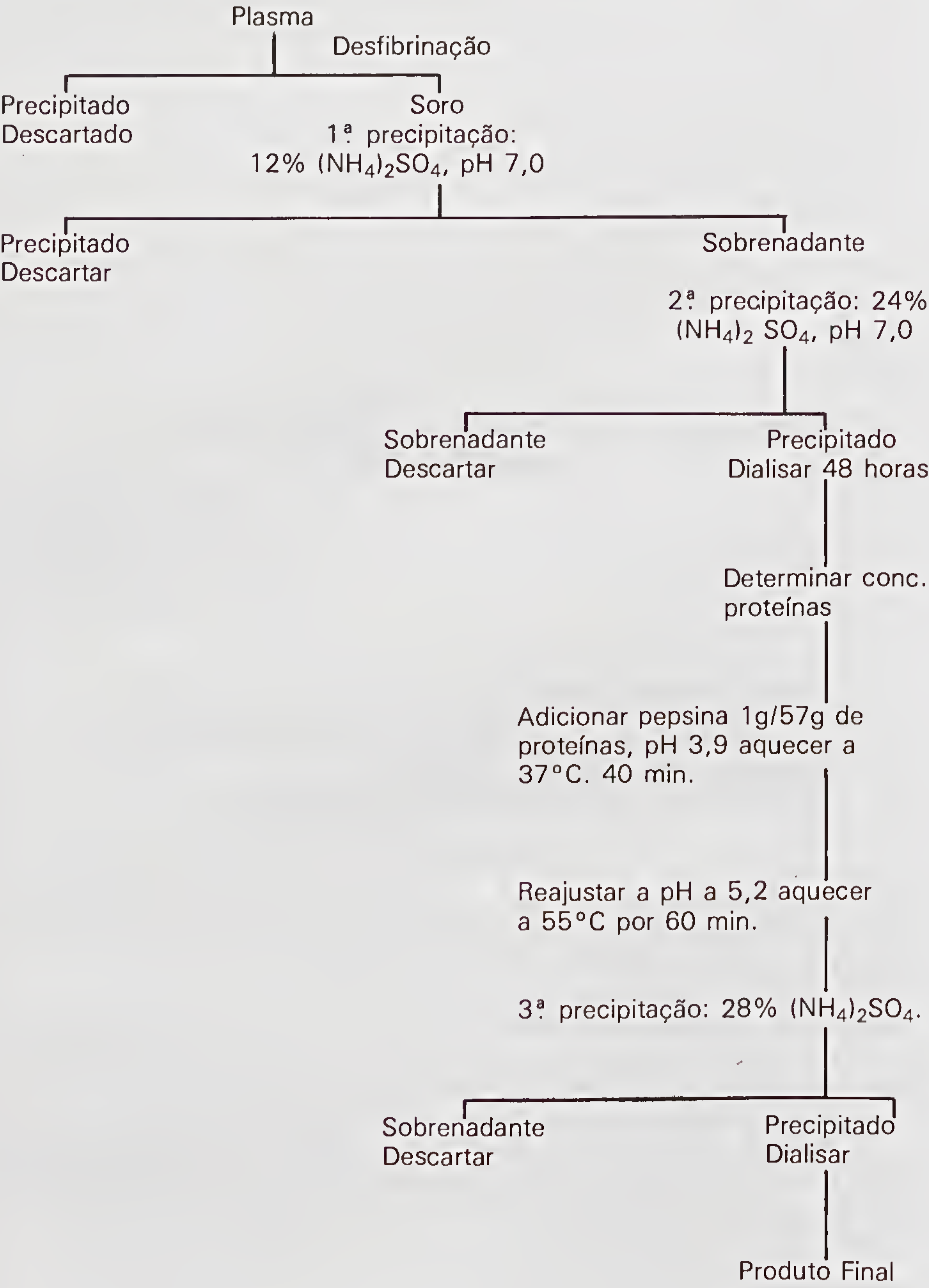
Os rendimentos médios, em número de unidades recuperadas no soro final, variam dentro de uma faixa de 40% a 50%. Em face ao elevado custo de produção, observado na preparação dos soros hiperimunes, persiste constantemente a necessidade de pesquisas de novos métodos ou de variações que, introduzidas nas técnicas básicas, proporcionem rendimentos mais elevados.

Os autores, objetivando uma redução de perdas inerentes ao método de purificação, introduziram algumas alterações na técnica básica de Pope cujos resultados indicaram possibilidades de rendimentos substancialmente maiores no processamento do soro anticrotálico.

* Seção de Concentração e Fracionamento de Soros.
** Laboratório Especial de Imunoquímica
Instituto Butantan — CP 65 — 01051 — São Paulo-SP-Brasil
Recebido para publicação em 01.3.90 e aceito em 12.10.90.

MATERIAL E MÉTODOS

DESCRIÇÃO ESQUEMÁTICA DO PROCEDIMENTO PROPOSTO DE PURIFICAÇÃO DO PLASMA ANTICROTÁLICO.



GUIDOLIN, R.; STEPHANO, M.A.; HIGASHI, H.G.; FERREIRA, O.V.; DIAS da SILVA, W. Purificação de plasma anticrotálico de origem eqüina. **Bol. Biotecnol.**, 1: 11-15, 1990.

Plasmas: consistiu de uma amostra de plasmas de não menos do que 40 cavalos hiperimunizados com veneno de *Crotalus durissus terrificus* crotamina positivo, sangrados assepticamente[3].

Desfibrinação do plasma: foi obtida pela adição de 20ml de solução a 20% de cloreto de cálcio ($CaCl_2$), por litro e agitação por sistema de hélice (250 rpm). A cada 15 minutos o material mantido a 37°C era agitado por 3 a 4 minutos, durante 3 horas. O precipitado foi eliminado por filtração em papel tipo Whatman nº 50.

Primeira precipitação: foi efetuada pela adição lenta de 1 volume de solução a 24% p/v de sulfato de amônio, $(NH_4)_2\ SO_4$ comercial, e 1,8% p/v de cloreto de sódio (NaCl) p.a., a 1 volume de plasma desfibrinado, pH ajustado a 7,0. A mistura foi mantida em agitação (200rpm) durante a adição e por mais 60 minutos, à temperatura ambiente. O material foi armazenado em repouso a 5°C durante uma noite e, em seguida, filtrado em papel tipo Wathman nº 50.

Segunda precipitação: foi obtida pela adição lenta de sulfato de amônio sólido ao sobrenadante da primeira precipitação, cujo pH havia sido ajustado a 7,0. A adição do sulfato de amônio, sob agitação constante (200rpm), foi feita até atingir a concentração de 24% p/v. Após a adição mencionada o material continuou em agitação por mais 60 minutos e, em seguida, mantido em repouso a 5°C durante uma noite. Na manhã seguinte foi filtrado em papel tipo Whatman nº 50 e o precipitado recolhido.

Diálise: o precipitado de 1 litro de plasma foi ressuspenso em 50 a 60ml de solução salina-fenolada (0,3% v/v) e colocado em saco de papel celofane* especial para diálise.

Aproximadamente 2/3 do material ficaram por 48 horas em contato com 20 litros de solução salina adicionada de 0,3% de fenol v/v. A solução salina-fenolada era substituída a cada 12 horas.

Cálculos de Índices de Purificação e Rendimentos: segundo Harms[2]

Determinação da concentração de proteína: segundo método de Lowry e col.[5]

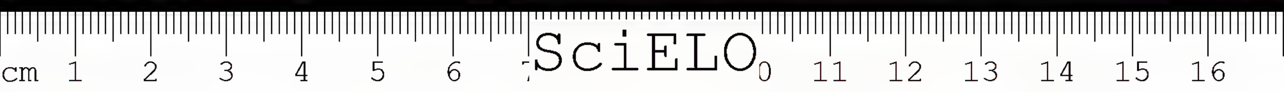
Digestão enzimática: ao material dialisado foi adicionado 1g de pepsina (1/10.000) para cada 57g de proteína do dialisado, cujo pH foi previamente ajustado a 3,9 com solução 2,5M de ácido clorídrico. A ação da pepsina durou 40 minutos, dos quais os 10 primeiros, sob agitação de 200rpm e os 30 minutos restantes em repouso, e o material foi sempre mantido a 37°C. Imediatamente após esse período, o pH foi reajustado a 5,2 com solução a 20% de hidróxido de sódio p.a. p/v e a mistura aquecida a 55°C, durante 60 minutos. A elevação da temperatura do material, que estava a 37°C, atingiu os 55°C em aproximadamente 60 minutos.

Terceira precipitação: obtida pela adição lenta de 28% p/v de sulfato de amônio sólido, sob agitação constante de 200rpm, pH 5,2, à temperatura ambiente. Completada a adição, o material permaneceu sob agitação (200 rpm) durante 60 minutos e foi armazenado, em repouso, a 5°C durante uma noite e, em seguida, filtrado em papel tipo Whatman nº 50.

O precipitado foi submetido à diálise como acima indicado.

Verificação da Concentração de Albumina no Soro final: por eletroforese.[4]

* Papel celofane EMBLEMA 350 P



Determinação do título antiveneno crotálico: por doseamento em camundongos albinos de 18 a 22g de peso. Foram preparadas soluções de veneno crotálico de referência, contendo 5 DL_{50} e incubados com volume igual de diferentes diluições do soro em teste (fator da diluição 1,2), a 37°C, durante 30 minutos. Misturas-controles, contendo 0,15M de NaCl, em lugar do soro, correram paralelamente. Oito camundongos, por diluição ou para a mistura-controle, foram inoculados intraperitonealmente com 0,5ml de cada solução. Os animais foram observados por 48 horas e o número de sobreviventes anotado. Os resultados foram obtidos através do método de cálculo dos probitos[1].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1, resume os resultados obtidos com a técnica proposta, com duas partidas distintas de plasmas de cavalos diferentes.

TABELA 1

Resultados de análises químicas, biológicas, índice de purificação e rendimentos obtidos pela purificação de dois plasmas anticrotálicos diferentes.

Preparação nº	Volume inicial de Plasma ml	Título inicial do Plasma mg/ml	Albumina no Soro Final %	Título do Soro Final mg/ml	Índice de Purificação	Rendimento %
09-89-30	600	0,6	1,0	1,2	1,87	68,6
11-89-46	1.480	0,74	$\leq$ 1,0	1,77	3,51	64,6

O estudo eletroforético da preparação final nº 11-89-46 demonstrou concentração de albumina inferior a 1% e fração alfa acentuadamente reduzida. As regiões Beta e Gama apresentaram-se aumentadas, em cujas frações encontram-se as imunoglobulinas eqüinas.

Os dados numéricos obtidos eletroforeticamente nos permitiram concluir que, com a técnica empregada, foi eliminada grande parte das proteínas imunologicamente inativas, conservando-se 94,6% das frações globulínicas.

ABSTRACT: It was been shown that some modifications introduced on the basic technique, described by Pope and others for heterologous hyperimmune sera purification, induced over 60 per cent of specific antivenon yields (anti-crotalus serum)
KEYWORDS: Anti-crotalus serum, purification, yields

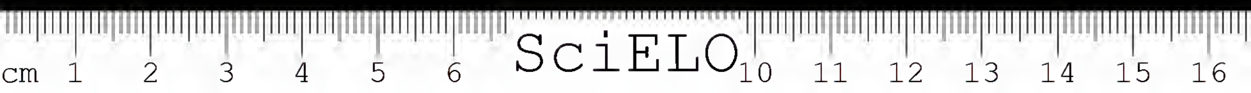
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FINNEY, D.J. Probit analysis. 3 ed. Inglaterra; Cambridge University Press, 1971.
2. HARMS, A.J. The purification of antitoxic plasmas by enzyme treatment and heat denaturation. *Biochem J., 42*:390, 1948.
3. HIGASHI, H.G., GUIDOLIN, R.; NISHIKAWA, A.K.; YAMAGUCHI, I.K.; STEPHANO, M.A.; SANTOS, M.J.; SILVA, W.D.; UEDA, C.M.P.M. Produção de anticorpos antiveneno total de *Crotalus durissus terrificus* em cavalos por fosfolipase A2. *Mem. Inst. Butantan, 51*:91, 1989.
4. STATO, K.; KASAI, H. Electrophoresis of serum proteins on gelatinezed cellulose acetate. *Med. Biol.*, 70(5):195, 1965.



5. LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin fenol reagent. *J. Biol. Chem.*, *193*:265, 1951.
6. POPE, C.G. Disaggregation of proteins by enzymes. *Brit. J. exp. Path.*, *19*:245,1938.
7. POPE, C.G. The action of proteolytic enzymes on the antitoxins and proteins in immune sera. I — True digestion of the proteins. *Brit. J. exp. Path.*, *20*:132, 1939.
8. POPE, C.G. The action of proteolytic enzymes on the antitoxins and proteins in immune sera. II — Heat denaturation after partial enzyme action. *Brit. J. exp. Path.*, *20*:201, 1939.




cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 10 11 12 13 14 15 16

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

1. Somente serão aceitos trabalhos inéditos e que se destinem exclusivamente à revista. É proibida a reprodução com fins lucrativos. Os artigos de revisão serão publicados a convite da Comissão Editorial.
2. Os trabalhos deverão ser redigidos em português, inglês ou francês, datilografados preferencialmente em máquina elétrica, em espaço duplo em 3 (três) vias, em papel formaro ofício e numerados no ângulo superior direito.
3. No preparo do original será observada, sempre que possível, a seguinte estrutura: **Página de rosto:** título do artigo, nome(s) do(s) autor(es) e filiação científica. **Texto:** introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusões, agradecimentos e referência bibliográfica. **Mareriał de referência:** resumos (em português e inglês); unitermos (palavras ou expressões que identificam o conteúdo do artigo; devem ser incluídas até um limite máximo de três, em português e inglês).
4. As referências bibliográficas deverão ser ordenadas alfabeticamenre e numeradas.
   Exemplos:
   Para livros: autor, título, edição, local de publicação, ediror, ano, páginas.
   7. BIER, O. Microbiologia e imunologia. 24.ed. São Paulo, Melhoramentos, 1985. 1234p.
   Para artigos: autor, título do artigo, título do periódico, volume, página inicial e final, ano.
   8. MACHADO, J.C. & SILVEIRA F.º, J.F. Obtenção experimental da pancreatite hemorrágica aguda no cão por veneno escorpiônico. **Mem. Insr. Butantan, 40/41:** 1-9, 1976/77.
   As citações no texto devem ser por números-índices correspondentes às respectivas referências bibliográficas.
   Exemplos:
   ... método derivado de simplificação de armadilha de Disney[1]
   ... segundo vários autores[2,3,4]
5. As ilustrações (fotos, tabelas, gráficos etc.) deverão ser originais e acompanhadas de legendas explicativas. As legendas serão numeradas e reunidas em folha à parte. Os desenhos deverão ser a nanquim e as fotografias bem nítidas, trazendo no verso o nome do autor e a indicação numérica da ordem a ser obedecida no texto. As ilustrações deverão ser organizadas de modo a permitir sua reprodução dentro da mancha da revista (22 x 12,5cm).
6. Os artigos deverão conter no máximo 6 (seis) ilustrações (branco e preto). De cada trabalho serão impressas 50 (cinqüenra) separatas, sendo 10 para a Biblioteca do Instituto e 40 para os autores.
7. Os textos originais não serão devolvidos e os originais das ilusrrações esrarão à disposição dos autores.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

1. Manuscripts submitted to the Editorial Board should be unpublished texts and should not be under consideration for publication elsewhere. Reproduction for commercial purposes is not allowed. The Editorial Board will plan rhe publicarion of revision articles.
2. The original and two copies of papers should be rypewritren in Porruguese, English or French, double spaced, on typing paper (31 x 21cm). Pages should be numbered consecutively ar the upper right corner.
3. The following structure should be considered in the preparation of rhe manuscript: **Title page:** with article title, name of author(s), professional address. **Texr:** with introduction, material and methods, results, discussion, conclusions, acknowledgments, references, abstracts (in Portuguese and English), and keywords. A maximal number of 03 keywords should be included in Portuguese and English.
4. References in alphabetical order should be numbered consecutively.
   Examples:
   Books
   7. BIER, O. Microbiologia e imunologia. 24.ed. São Paulo, Melhoramentos, 1985. 1234p.
   Articles
   8. MACHADO, J.C. & SILVEIRA F.º, J.F. Obtenção experimenral da pancreatite hemorrágica aguda no cão por veneno escorpiônico. **Mem. Inst. Buranran, 40/41:** 1-9, 1976/77.
   Citarions in rhe text should be identified by rhe reference number.
   Examples:
   ... método derivado de simplificação de armadilha de Disney[1]
   ... segundo vários autores[2,3,4]
5. Illustrations (photographs, tables, figures etc.) should be the originals and legends should be submitted typewrirren on a separate sheet. Line-drawings should be with China ink and photographs must be of top quality. On the back of each figure or photograph the name of the author(s) should be lighly writren and the number indicating the sequence in the rexr. Illustrations should fit in a page measuring 22 x 12,5cm.
6. No more than 6 illustrations will be accepted and photographs should be black and white. Fifty reprints of each article are provided without charge, and 10 will be kept at the library.
7. Submitted manuscripts will not be returned to the aurhor(s) but the original illustrations are available to author(s) by request.

SSN 0073 - 9901



IMPRENSA OFICIAL
DO ESTADO S.A. IMESP
SÃO PAULO — BRASIL
1990

NOVO TEMPO



TRABALHO E DESENVOLVIMENTO

